

Análise de um polimorfismo no gene transportador da serotonina (5-HTTLPR) em indivíduos da zona do Alentejo e a sua relação com o comportamento suicida

Maria Margarida Feliciano Silvestre Ferreira

M
2017



Maria Margarida Feliciano Silvestre Ferreira. Análise de um polimorfismo no gene transportador da serotonina (5-HTTLPR) em indivíduos da zona do Alentejo e a sua relação com o comportamento suicida



Análise de um polimorfismo no gene transportador da serotonina (5-HTTLPR) em indivíduos da zona do Alentejo e a sua relação com o comportamento suicida

Maria Margarida Feliciano Silvestre Ferreira



Maria Margarida Feliciano Silvestre Ferreira

**ANÁLISE DE UM POLIMORFISMO NO GENE TRANSPORTADOR
DA SEROTONINA (5-HTTLPR) EM INDIVÍDUOS DA ZONA DO
ALENTEJO E A SUA RELAÇÃO COM O COMPORTAMENTO
SUICIDA**

Dissertação de Candidatura ao grau de Mestre
em Medicina Legal submetida ao Instituto de
Ciências Biomédicas de Abel Salazar da
Universidade do Porto.

Orientador – Doutor Rui Manuel de Medeiros
Melo Silva

Categoria – Professor Associado

Afiliação – Instituto de Ciências Biomédicas Abel
Salazar da Universidade do Porto.

Co-orientador – Doutor Paulo Guilherme
Leandro de Oliveira

Categoria – Professor Auxiliar

Afiliação – Departamento de Biologia,
Universidade de Évora

“Ideas pull the trigger, but instinct loads the gun.”

Don Marquis

AGRADECIMENTOS

Este é um trabalho do qual fizeram parte, de uma forma ou de outra, inúmeras pessoas, às quais eu não podia deixar de agradecer.

Em primeiro lugar tenho a agradecer ao Professor Paulo de Oliveira, que ao longo destes longos meses foi coorientador, orientador e amigo. Porque mesmo tendo sempre mil e uma coisas para fazer conseguiu arranjar sempre tempo para mim, dando a sua inteira dedicação e disponibilidade na orientação deste trabalho. Embora já o conhecesse conseguiu a cada dia surpreender-me, fosse pela maneira como se dedicava ao trabalho propriamente dito, fosse pela preocupação que demonstrava pelo meu bem estar. Fez-me sentir não só a aluna, mas sim como parte de uma equipa. Agradeço todas as ideias e correções que tanto ajudaram na evolução deste trabalho e ainda a obstinação pelo perfeccionismo do trabalho, que embora por vezes me deixasse maluca, acabou por valer a pena. E ainda o facto de conseguir amenizar certas situações de stress com humor e perceber quando era realmente necessária uma pausa. Desejo que todos os alunos possam ter a sorte de se cruzar no seu percurso académico com pelo menos um professor assim.

Em segundo lugar agradeço ao Professor Rui Medeiros, por ter aceitado orientar esta tese e acreditado que o tema tinha realmente interesse académico. Agradeço ainda ter-me ajudado a limar algumas arestas na minha ideia inicial, potenciando assim uma grande melhoria em termos metodológicos e ainda a ajuda na aquisição do material necessário para toda a realização do trabalho.

Agradeço à professora Maria José Pinto da Costa, diretora do mestrado, pela calma que conseguiu transmitir nesta altura tão stressante e pela ajuda que deu sempre que necessário.

À Doutora Ana Matos Pires, que desde o primeiro contacto com ela soube que estava em boas mãos. Esteve sempre à distância de um e-mail, ajudou-me na resolução dos problemas que iam surgindo e deu-me ainda ideias que ajudaram a enriquecer o trabalho e a progredir. Tenho a agradecer a receção que me fez e a maneira como me ajudou a integrar na equipa. Graças ao seu espírito de ajuda e facilitismo a obtenção das amostras para o estudo correu pelo melhor. Dou-lhe os parabéns pelo tipo de pessoa que é e pela forma como desempenha o papel de diretora. Não posso ainda deixar de agradecer à Doutora Isabel Santos, dado que foi ela que me potenciou o contacto com a Doutora Ana.

Dentro do Departamento de Psiquiatria do Hospital de Beja são várias as pessoas a quem quero agradecer. Começando pelo Flávio, a Cláudia e a Mariana, assistentes técnicos. Ao Flávio que tanto me ajudou, despendendo grande parte do seu tempo a fazer telefonemas e a enviar cartas a “recrutar” possíveis participantes para o estudo, mesmo durante as suas férias. Que me “escoltou” por diversas vezes ao piso do internamento sem nunca se queixar e que tinha sempre uma palavrinha para animar o dia, o meu obrigada. À Cláudia e à Mariana, que estiveram sempre perto de mim e me ajudaram com tudo o que estava ao seu alcance. Foram uma companhia e ajuda constante. Às Doutoras Célia, Lucília, Maria e Yara, por cada uma ter contribuído à sua maneira para a obtenção da amostragem do presente estudo. Foram muitos dias a chateá-las sem que elas se queixassem. Obrigada pela vossa colaboração em encaminhar potenciais participantes para o estudo. Agradeço ainda à Enfermeira Paula, que desde que me começou a ajudar o número de recolhas aumentou consideravelmente. Tal foi a sua ajuda que cheguei a não ter mãos a medir para tanta gente! Com tanta simpatia que emana facilmente se entende como conseguiu persuadir tantos utentes a ser voluntários no estudo. Um grande obrigada pelo esforço. E ao Enfermeiro José Carlos, que embora estivesse de férias quando eu cheguei ao departamento, assim que regressou ofereceu-se logo para ser ele próprio voluntário. Agradeço a sua preocupação constante em saber como estava a evolução da recolha de amostras. Ainda um enorme obrigada ao Enfermeiros Brissos, que arranjou a lista de pessoas que tinham estado no serviço de urgência do Hospital devido a uma tentativa de suicídio, permitindo o posterior contacto com essas pessoas, numa tentativa de recrutar mais participantes. O meu obrigada ainda a todos os restantes membros do serviço.

Um grande obrigada a todos os voluntários do estudo, alguns dos quais eu sei que foi particularmente difícil falar sobre um assunto tão sensível, mas que ainda assim demonstraram sempre um grande interesse em ajudar.

Ao longo do trabalho houve alturas em que tive de me tornar um pouco nómada, não podendo deixar de agradecer às pessoas que me deram teto nessas ocasiões. Ao André Farinho (e família) que fez o próprio irmão abdicar do seu quarto para eu lá ficar a dormir (e que mais tarde acabou por ceder o próprio quarto). Pela imensa hospitalidade, por me ter permitido fazer sentir em casa e ainda pela companhia depois dos longos dias passados no Hospital de Beja, incluindo as sessões de cinema diárias. Agradeço desde o primeiro dia, por todo o apoio que me deu em relação à tese e por todos os meus devaneios que ele aturou. Foi uma ajuda imprescindível em vários aspetos. Agradeço ainda à minha prima Joana e ao Flávio, por me terem deixado acampar na sala deles para poder ficar mais perto do laboratório. E claro, à minha irmã Inês e ao João, que

tiveram de me aturar tantos dias e tantas noites, e de me ouvir tantas vezes, ao final do dia, queixar do trabalho. Apoderei-me da sala deles, e em especial do maravilhoso sofá, e ainda tive direito a vários banhos diários por parte do Aarushi. Tive o privilégio de provar a sopa alentejana de tomate, uma delícia para confortar a alma depois de um longo dia de trabalho! Graças a eles consegui também ficar mais perto do laboratório e ganhei ainda companhia para as viagens. Obrigada por me deixarem sentir em casa na vossa casa. Ainda um obrigada especial à minha irmã, que além de me dar guarida e me comprar montes de comida sem glúten, esteve sempre por perto e se preocupou em saber como estava tudo a correr (e ainda teve o bom senso de às vezes não perguntar nada para evitar alguma explosão da minha parte). Obrigada ainda por me ter dado o melhor presente que poderia receber, a Ema!, que além de me ter dado a maior alegria de sempre serviu de incentivo para terminar a tese ainda mais rapidamente.

Agradeço ainda às minhas colegas de mestrado, que com o tempo se tornaram grandes amigas, em especial à Diana, à Márcia e à Raquel, que foram uma das melhores coisas que ganhei ao entrar para o mestrado. Ao longo destes meses, apesar dos vários problemas com que cada uma de nós se deparou, continuámos sempre em contacto, e juntas a sonhar com o dia em que íamos finalmente entregar as teses e celebrar. As nossas infinitas conversas a desejar nunca ter sequer começado uma tese, a reclamar de tudo o que estava errado neste país renderam momentos de muitas gargalhadas, os quais foram essenciais para conseguir continuar em momentos mais difíceis. Um grande obrigada a vocês meninas e a maior sorte do mundo!

Às minhas ex-colegas de casa, Beatriz e Bruna, que mesmo à distância se mantiveram sempre por perto e me ajudaram a rir dos problemas. A minha estadia no Porto nunca teria sido a mesma sem vocês. Que continuemos sempre assim unidas e que em breve existam viagens para o Brasil baratas para nos podermos encontrar todas!

Às minhas melhores amigas, Catarina, Joana, Mariana e Raquel pelo apoio e pelas pequenas coisas que me ajudaram a aliviar o stress do dia-a-dia. Por serem quem são e estarem sempre presentes. Embora eu saiba que não me conseguem imaginar a ser alguma coisa a não ser “estudante” acho que agora vai mesmo ter de ser!

À Sara e à Daniela, que mesmo longe se mantiveram sempre perto. Que estando na mesma situação tanto me ajudaram e me fizeram ver como o “mal” era geral e que ia acabar por chegar ao fim. Obrigada pelas palavras de apoio e incentivo. Podemos finalmente festejar como nos bons velhos tempos em Évora!

Um grande obrigada aos meus avós, António e Ema, que nunca deixaram que nada me faltasse e que zelaram sempre pela minha educação e pelo meu bem. Que me permitiram chegar onde cheguei e que desde o início do curso me perguntaram infinitas vezes se precisava de alguma coisa e, embora o tema não os deixasse propriamente a dar pulos de alegria, estiveram sempre a par das minhas andanças. E ainda pelas sempre sábias palavras da minha avó, que têm passado de geração em geração, colocando acima de tudo a saúde, como “mais vale um burro vivo que um cavalo morto”.

Um enorme obrigada também ao resto da família, em especial às minhas Tias, Vira e Guida, que de uma forma ou de outra ajudaram no progresso do trabalho.

Por último, mas não menos importante, à minha Mãe, para quem nunca hei de ter palavras suficientes para expressar a minha gratidão. Se este trabalho existe é em primeiro lugar graças a ela, que nunca duvidou das minhas capacidades e apesar da minha relutância sempre me impeliu a chegar mais longe e a ser melhor. Que ouviu as minhas frustrações dia após dia e que mesmo quando me ouvia falar em coisas que não fazia ideia do que eram, continuava a ouvir e tentava simplifica-las para mim. Que durante tantos meses levou com o meu mau humor mas que ainda assim me tentou sempre animar, impedindo-me de ir a baixo. Por todo esse mau humor e mau feitio (tudo derivado da tese, claro!), pelas respostas tortas, pelos meus gritos de frustração e tudo o mais, peço desculpa e agradeço o facto de nem assim teres parado de me ajudar e volta e meia apareceres com um chocolate para me animar! Agradeço-te a ti que me ensinaste a ser uma pessoa cujo lema de vida se tornou não desistir às primeiras dificuldades, porque a persistência é a chave do sucesso.

Sei que o meu trabalho é uma gota no oceano, mas sem ele, o oceano seria menor.

Madre Teresa de Calcutá

RESUMO

INTRODUÇÃO: O suicídio é visto atualmente como um problema de saúde pública, estimando-se que por ano se suicida um milhão de pessoas, encontrando-se assim entre as 10 principais causas de morte. Têm sido vários os estudos a associar alterações no sistema serotoninérgico com o diagnóstico de doenças psiquiátricas e com o comportamento suicida. Aparentemente, há uma relação entre uma expressão reduzida do transportador da serotonina (5-HTT) e a vulnerabilidade ao suicídio, por isso o seu gene é um dos candidatos no estudo do comportamento suicida. Este gene possui um polimorfismo de deleção na região promotora (5-HTTLPR), onde a variante longa (alelo L) é considerada ancestral, e a variante curta (alelo s) está associada a uma menor expressão de 5-HTT. Reconhecem-se ainda duas variantes de L, L_A e L_G, sendo esta última funcionalmente equiparada ao alelo s. Este facto introduz uma perspetiva diferente (funcional) na análise do polimorfismo. O objetivo deste trabalho foi avaliar, em colaboração com a Unidade Local de Saúde do Baixo Alentejo, numa região conhecida pelas elevadas taxas de suicídio, se existe efetivamente uma relação entre estes polimorfismos e o comportamento suicida, tendo ainda em conta algumas variáveis condicionantes.

MÉTODOS: Foi realizado um estudo tipo caso-controlo, do qual fizeram parte 87 indivíduos caucasianos (36 com tentativa de suicídio (TS) e 51 sem tentativa de suicídio). Foi pedido aos participantes que cedessem uma amostra de saliva e que preenchessem um questionário sociodemográfico e o Questionário de Ideação Suicida (QIS). A região promotora do gene 5-HTT contendo o polimorfismo 5-HTTLPR foi amplificada por PCR a partir destas amostras, os produtos da PCR digeridos com a enzima de restrição *MspI*, e os resultados visualizados após eletroforese em gel de agarose a 2% em TBE 1x.

RESULTADOS: A distribuição dos scores do QIS, muito semelhante entre os indivíduos com TS e o subgrupo de controlos que possuíam ideação suicida (IS), e ambas altamente diferenciadas da dos restantes indivíduos (sem TS nem IS), levou a colocar a hipótese de analisar também os dados considerando todos os indivíduos com IS (com ou sem TS) como casos (critério ideação suicida, em contraste com o critério ato suicida). O score médio do QIS era mais elevado no sexo feminino, e globalmente observou-se um aumento significativo associado à existência de adversidades na infância. Observou-se uma associação do grupo caso com o diagnóstico de patologia psiquiátrica, quer se usasse o critério ato quer o critério ideação. As frequências obtidas para os alelos foram as seguintes: 48,9% para s, 46,6% para L_A e 4,6% para L_G. Na amostra estudada, não se

observou uma associação significativa do comportamento e/ou ideação suicida com o genótipo 5-HTTLPR ($\chi^2=2,27$ ns). Não obstante, possuir alelo s (genótipos Ls e ss), e passar por pelo menos uma adversidade na infância,, parece poder contribuir para o comportamento suicida, especialmente tendo em conta os scores do QIS para a TS. Obtiveram-se ainda alguns resultados interessantes de associações entre o comportamento suicida e outras variáveis estudadas, e que aparentemente não se encontram ainda descritas na literatura.

CONCLUSÕES: Apesar das dificuldades em evidenciar-se uma relação direta entre o polimorfismo 5-HTTLPR e o comportamento suicida, este trabalho permitiu avaliar esta interação para uma amostra portuguesa, incluindo ainda a análise do polimorfismo na forma bialélica e funcional, apontando evidências preliminares que merecem continuar a ser exploradas.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Suicide is regarded as a public health problem, with an estimated one million people committing suicide each year, being among the top 10 causes of death. There have been several studies associating serotonergic system alterations with psychiatric diseases and suicidal behaviour. Apparently there may be a connection between a decreased serotonin transporter (5-HTT) expression and the vulnerability to suicide, so its gene is one of the candidates in the study of suicidal behaviour. This gene has a deletion polymorphism in the promoter region (5-HTTLPR), where the long variant (allele L) is considered ancestral, while the short variant (s allele) is associated with a lower expression of 5-HTT. Two variants of L, L_A and L_G, are further recognized, the last one being functionally equivalent to the s allele. This introduces a different (functional) perspective in the polymorphism analysis. The purpose of this study was to evaluate, in collaboration with the Local Health Unit of Baixo Alentejo, in a region known for the high suicide rates, if there is a relationship between these polymorphisms and suicidal behaviour, taking into account some conditioning variables.

METHODS: A case-control type of study was carried out, including 87 Caucasian individuals (36 with suicide attempt (SA) and 51 with no suicide attempt). Participants were asked to give a saliva sample and to complete both a sociodemographic questionnaire and the Suicidal Ideation Questionnaire (QIS). The promoter region of the 5-HTT gene containing the 5-HTTLPR polymorphism was amplified by PCR from these samples, and the PCR products were digested with the *MspI* restriction enzyme, and the results visualized after electrophoresis in a 2% agarose gel in 1x TBE.

RESULTS: The QIS scores distributions, very similar between individuals with SA and the subset of controls with suicidal ideation (SI), both highly differentiated from the remainder controls (without SA or SI), pointed to the hypothesis of a second criterion for separating cases and controls, considering all individuals with SI (with or without SA) as cases (SI criterion). The mean score of QIS was higher in females, and globally there was a significant increase associated with childhood adversity. An association of the case group with the psychiatric pathology diagnosis was observed, both using the SA criterion or the SI criterion. The frequencies obtained for the alleles were as follows: 48.9% for s, 46.6% for L_A and 4.6% for L_G. In the studied sample, there was no significant association of suicidal behaviour and/or ideation with the 5-HTTLPR genotype ($\chi^2=2,27$ ns). Nevertheless, having the s allele (genotypes Ls and ss), and going through at least one

childhood adversity, seems to contribute to suicidal behaviour, especially considering the QIS scores and the SA criterion. There were also some interesting results of associations between the suicidal behaviour and other variables studied, apparently not described in the literature yet.

CONCLUSIONS: Despite the difficulties in demonstrating a direct relationship between the 5-HTTLPR polymorphism and the suicidal behaviour, this work allowed to evaluate this interaction for a Portuguese sample, also including the polymorphism analysis in biallelic and functional perspectives, pointing out preliminary evidences that deserve further exploration.

ABREVIATURAS

5-HIAA – Ácido 5-Hidroxi-Indolacético

5-HT – 5-Hidroxitriptamina ou Serotonina

5-HT_{1A} ou 5-HTR_{1A} – Gene do Recetor de Serotonina 1A

5-HT_{1B} ou 5-HTR_{1B} – Gene do Recetor de Serotonina 1B

5-HT_{1E} ou 5-HTR_{1E} – Gene do Recetor de Serotonina 1E

5-HT_{2A} ou 5-HTR_{2A} – Gene do Recetor de Serotonina 2A

5-HTP – 5-Hidroxitriptofano

5-HTR – Gene do Recetor da Serotonina

5-HTT – Gene Transportador da Serotonina

5-HTTLPR – (Serotonin-Transporter-Linked Polymorphic Region) – Região Polimórfica do Gene do Transportador de Serotonina

ACE Study – Adverse Childhood Experiences Study

ACP1 – Gene da Fosfatase Ácida 1

ACTH – Hormona Adrenocorticotrópica

ACTN2 – Gene da Alfa-2-Actinina

AP2 – Fatores Transcrição AP2 (Proteína Ativadora 2)

BDNF – Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro

BHS - (Beck's Hopelessness Scale) - Escala de Desesperança de Beck

CNPD – Comissão Nacional de Proteção de Dados

CNV – (Copy Number Variations) – Variações do número de Cópias

COMT – Catecol-Orto-Metiltransferase

CRHR1 – Gene que codifica o recetor tipo 1 da hormona libertadora de corticotrofina

DGS – Direção Geral de Saúde

DHCR7 – Gene da 7-Dihidrocolesterol Redutase

DMSO – Dimetilsulfóxido ou Sulfóxido de Dimetilo

dNTPs – Mistura equimolar dos 4 nucleótidos de DNA (Adenina, Timina, Citosina e Guanina), forma trifosfato

DSM-5 – Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, version 5 - Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, versão 5

FKBP5 – Gene que liga ao fármaco FK506

GABRP – Gene da Subunidade Pi do Recetor A do Ácido Gama-Aminobutírico

GC – Guanina e Citosina

GEWIS – (Genome-Environment-Wide Interaction Studies) – Estudos de Interação entre o Genoma Completo e o Ambiente

GWAS – (Genome-Wide Association Study) – Estudos de Associação no Genoma Completo

HPA - Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal

IL-1 – Interleucina 1

IL-2 – Interleucina 2

IL-6 - Interleucina 6

IMV – (The Integrated Motivational-Volitional Model of Suicidal Behaviour) – Modelo Motivacional-Volitivo Integrado do Comportamento Suicida

INE – Instituto Nacional de Estatística

INML – Instituto Nacional de Medicina Legal

LCR – Líquido Cefalorraquidiano

LPA – Poliacrilamida Linear

MAO-A – Monoamina Oxidase A

MB-COMT – Isoforma membranar da COMT

N251K – Polimorfismo do Gene do Recetor α_{2A} -adrenérgico

NGF – Fator de Crescimento Neural

NR3C1 – Gene do Recetor de Glucocorticoide

NT-1 – Neurotrofina 1

NT-3 – Neurotrofina 3

NT-4 – Neurotrofina 4

OMS – Organização Mundial de Saúde

OXTR – Gene do Recetor da Oxitocina

PCR - (Polymerase Chain Reaction) – Reação em Cadeia da Polimerase

QIS – Questionário de Ideação Suicida

RFLP – (Restriction Fragment Length Polymorphism) – Polimorfismo no Comprimento do Fragmento de Restrição

s-COMT – Isoforma Solúvel da COMT

SIS – (Suicide Intention Scale) – Escala de Intenção de Suicídio

SLC6A4 – (Solute Carrier Family 6, Member A4) Gene do Transportador da Serotonina

SNC – Sistema Nervoso Central

SNP – (Single Nucleotide Polymorphism) – Polimorfismo de Nucleótido Simples, ou mutação pontual polimórfica

SPS – Sociedade Portuguesa de Suicidologia

SSI - (Scale for Suicide Ideation) - Escala para a Ideação Suicida

SSRI – (Serotonin Selective Reuptake Inhibitor) Inibidores Seletivos da Recaptação da Serotonina

STR – (Short Tandem Repeats) - Microssatélite

TBE – Tris-Borato-EDTA

TE – Tris-EDTA

TNF – Fator de Necrose Tumoral

TPH – Gene da Enzima Triptofano Hidroxilase

TQIS – Score de QIS Transformado

ULSBA – Unidade Local de Saúde do Baixo Alentejo

UV – Ultra-Violeta

VNTR – (Variable Number of Tandem Repeats) - Minissatélite

ÍNDICE GERAL

| | |
|---|------|
| Agradecimentos | I |
| Resumo | V |
| Abstract | VII |
| Abreviaturas | IX |
| Índice Geral | XIII |
| Índice da Figuras | XV |
| Índice de Tabelas | XVII |
| Introdução | 1 |
| Revisão bibliográfica | 3 |
| O comportamento suicida | 3 |
| Alguns fatores de risco para o comportamento suicida | 23 |
| O suicídio e as doenças psiquiátricas | 30 |
| Questionário de Ideação Suicida (QIS) | 33 |
| Fisiopatologia do comportamento suicida | 34 |
| A genética, as doenças psiquiátricas e o comportamento suicida | 39 |
| Genes candidatos | 42 |
| Gene transportador da serotonina e os seus polimorfismos | 52 |
| Outros polimorfismos e genes associados ao comportamento suicida | 66 |
| Rastreios genómicas (GWAS, GEWIS) | 69 |
| Objetivos | 72 |
| Materiais e Métodos | 73 |
| Protocolo de obtenção de material biológico humano e de questionários | 73 |

| | |
|--|-----|
| Procedimento experimental | 76 |
| Resultados | 81 |
| Análise prévia da população | 81 |
| I Parte: Análise estatística da amostra | 83 |
| II Parte: Polimorfismo 5-HTTLPR | 101 |
| Discussão | 115 |
| Enviesamento da amostra | 117 |
| Efeito do genótipo sobre o score de QIS (direto ou indireto) | 118 |
| Genótipo e o TQIS | 119 |
| Genótipo, adversidades e TQIS | 120 |
| Comparação com a literatura | 120 |
| Classificação fenotípica pela perspectiva bialélica ou funcional | 135 |
| Melhorar a abordagem em estudos futuros | 137 |
| Conclusão | 143 |
| Referências Bibliográficas | 145 |
| Apêndice | 155 |
| Anexos | 172 |
| Anexo 1 – Consentimento informado | 172 |
| Anexo 2 – Questionário para o grupo caso (indivíduos com tentativa de suicídio) | 174 |
| Anexo 3 - Questionário para o grupo controlo (indivíduos sem tentativa de suicídio) | 176 |
| Anexo 4 – Questionário de Ideação Suicida (QIS) | 177 |
| Anexo 5 – Aprovação da Comissão Nacional de Proteção de Dados (CNPd) | 179 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|-----|
| Figura 1 – Modelo Motivacional-Volitivo Integrado do Comportamento Suicida (IMV) ... | 10 |
| Figura 2 – Letalidade dos atos suicidas em sete grupos etários | 13 |
| Figura 3 – Taxa bruta de mortalidade por Lesões Autoprovocadas Intencionalmente (suicídio), por 100.000 habitantes, Região do Alentejo | 15 |
| Figura 4 – Taxa de mortalidade por Lesões Autoprovocadas Intencionalmente (suicídio), por 100.000 habitantes, por sexo e local de residência (2012) | 18 |
| Figura 5 - Subdivisão da amostra por 3 grupos | 81 |
| Figura 6 – Gráficos representativos das distribuições do score de QIS, por classes | 84 |
| Figura 7 - Tabelas representativas dos valores médios de TQIS, por grau de escolaridade | 86 |
| Figura 8 - Gráficos representativos dos métodos utilizados nas tentativas de suicídio | 91 |
| Figura 9 – Gráficos representativos do nível de escolaridade juntando casos e controlos, no sexo feminino e sexo masculino | 97 |
| Figura 10 – Gráficos representativos do nível de escolaridade para o grupo A no sexo feminino e sexo masculino | 97 |
| Figura 11 – Gráficos representativos do nível de escolaridade para os controlos, nos critérios ideação e ato | 98 |
| Figura 12 - Progresso da amplificação por aumento da quantidade do volume de extrato incluído na solução de PCR | 101 |
| Figura 13 - Resultado da análise de amostras de 5 µL de solução da PCR após reamplificação | 102 |
| Figura 14 – Exemplo de análise dos produtos de PCR, obtidos pela amplificação do segmento contendo o 5-HTTLPR, após eletroforese em gel de agarose a 2% em TBE 1x | 103 |

Figura 15 – Resultado da sequenciação da amostra 9G amplificada pelos primers 5HTTf e 5HTTr, lida a partir do primer 5HTTr (cadeia *reverse*), representando a região contendo a posição polimórfica 104

ÍNDICE DE TABELAS

| | |
|---|-----|
| Tabela 1 – Valores anuais da taxa de suicídio global (sexo feminino e masculino) por cada 100.000 habitantes, para Portugal | 4 |
| Tabela 2 – Taxa de mortalidade padronizada por Lesões Autoprovocadas Intencionalmente (suicídio), por 100.000 habitantes, por sexo e grupo etário, nos Estados Membros da EU (2011) | 14 |
| Tabela 3 – Óbitos por causa de morte (CID-10 – lista europeia sucinta), segundo o mês do falecimento | 21 |
| Tabela 4 – Apresentação de alguns genes candidatos para o estudo do comportamento suicida | 48 |
| Tabela 5 - Distribuição dos indivíduos analisados pelos três grupos A, B e C, discriminando por sexo | 82 |
| Tabela 6 – Representação das tentativas de suicídio de acordo com a sua classificação em violenta ou não violenta, no sexo feminino, no masculino e global | 92 |
| Tabela 7 – Distribuição, de acordo com ter ou não ter filhos, para o sexo feminino, masculino e global | 95 |
| Tabela 8 - Esquema dos volumes de DNA que foram necessários de cada amostra para que se obtivesse um sinal suficientemente forte na sua amplificação | 102 |
| Tabela 9 – Distribuição do número de indivíduos de cada subgrupo da amostra (A, B e C), o total e combinações B+C (controlos, critério ato) e A+B (casos, critério ideação), de acordo com o seu genótipo (LL, LL*, Ls, L*s e ss) | 105 |
| Tabela 10 – Resultados do teste de independência entre genótipos e os diversos subgrupos da amostra | 106 |
| Tabela 11 – Valores médios e desvios-padrão de TQIS para cada genótipo, em casos e controlos (critério ideação, A+B / C), de acordo com possuir ou não adversidades | 109 |
| Tabela 12 – Representação de diversos fatores e os respetivos resultados encontrados neste estudo e encontrados na literatura | 121 |

INTRODUÇÃO

Embora o suicídio seja ainda muitas vezes considerado um assunto tabu, dificultando assim a sua prevenção, a sua importância epidemiológica e as preocupações que dela advêm no seio da sociedade têm motivado muitos estudos dedicados ao tema.^{2 11 20 32}

O comportamento suicida tem vindo a ser cada vez mais visto como um problema de saúde pública, na medida em que afeta pessoas de todas as idades, numa frequência tão elevada que faz dele uma das dez principais causas de morte no mundo.^{9 13 20 23 30} Estes valores provocam uma certa curiosidade pelo conhecimento acerca do que poderá despoletar uma reação tão antinatural, ainda para mais quando se vê que este comportamento tem grandes variações, seja no que diz respeito à idade, sexo ou mesmo distribuição geográfica.^{2 5 9 11 13 19 20 22 23 24 25 29}

Ao analisarmos vários casos de suicídio, ou mesmo apenas tentativas de suicídio, conseguimos concluir que existe uma perturbação psiquiátrica que lhe está muitas vezes associada - a depressão - que curiosamente também se encontra na lista das 10 principais causas de morte, e tal facto tem levado diversos investigadores a averiguar esta relação.^{2 9 10 11 16 25 6 27 32}

Face a alguns factos, como por exemplo a existência de famílias onde é “comum” o suicídio, tem sido proposta uma relação entre a genética e o suicídio, que se tem centrado essencialmente na pesquisa de genes do sistema serotoninérgico. Tal pesquisa prende-se na questão de parecer haver uma relação entre alterações da sinalização pela serotonina e o comportamento suicida, assim como com a depressão.^{1 2 3 5 6 7 9 10 11 13 14 16}

Um dos genes candidatos mais estudado a este respeito é o transportador da serotonina (5-HTT), localizado no cromossoma 17 e que é expresso na membrana pré-sináptica dos neurónios serotoninérgicos, sendo responsável pela recaptação da serotonina presente na fenda sináptica.^{2 3 5 6 11 12 14 15 17}

Nas populações tem-se demonstrado um polimorfismo (5-HTTLPR), correspondente a uma deleção de 44 bp, numa região que é interpretada como reguladora da transcrição do 5-HTT. Este polimorfismo pode ser evidenciado por PCR-RFLP, definindo-se dois alelos, o alelo de referência L (*long*), e o alelo s (*short*), com a deleção. Trata-se dum polimorfismo que não afeta a região codificante do 5-HTT, mas sim a sua expressão, em que o alelo s seria associado a uma transcrição menos eficiente, e por isso a uma acumulação de serotonina na fenda sináptica, face a uma recaptação insuficiente da

mesma por parte do 5-HTT. Contudo, os já muitos esforços dedicados à tentativa de compreender a implicação deste polimorfismo no comportamento suicida e na depressão têm trazido resultados divergentes.^{2 3 5 6 11 12 14 15}

Face à controvérsia encontrada na literatura e ainda ao peso que este tema tem para a sociedade, o principal propósito desta dissertação prende-se principalmente com averiguar a associação dos alelos do polimorfismo 5-HTTLPR, assim como dos genótipos a que dão origem, em grupos de pessoas com e sem tentativa de suicídio.

Dada a relação que já foi vista entre depressão e suicídio, e sendo o Baixo Alentejo a região do país que apresenta as taxas mais elevadas de suicídio, a população que fez parte deste estudo foi recrutada entre pacientes que são acompanhados pelo Departamento de Psiquiatria e Saúde Mental do Hospital José Joaquim Fernandes, em Beja. Foi realizado um estudo caso-controlo, do qual fizeram parte indivíduos com e sem tentativa de suicídio, tendo a maioria deles alguma perturbação psiquiátrica, e aos quais foi pedido o preenchimento de um questionário sociodemográfico, de um questionário de ideação suicida (QIS), e que cedessem uma amostra de saliva, para posterior pesquisa do polimorfismo a estudar.

Posto isto, já no laboratório, foi extraído o DNA a partir das amostras de saliva, o qual foi posteriormente amplificado por PCR e incubado com a enzima de restrição *MspI* e os produtos foram então separados por eletroforese em gel de agarose para visualização dos fragmentos obtidos.

O COMPORTAMENTO SUICIDA

O comportamento suicida representa uma das maiores e mais complexas preocupações na sociedade, sendo cada vez mais visto como um problema de saúde pública, falando mesmo já a OMS (Organização Mundial de Saúde) numa epidemia. O suicídio está longe de ter uma aceitação consensual e é tratado ainda em muitas sociedades como algo vergonhoso, o que faz dele um assunto tabu que por isso mesmo não é discutido abertamente, dificultando assim as medidas de prevenção.^{2 11 2012 32 54 83}

É fundamental referir que cada suicídio tem um sério impacto sobre outras pessoas numa média de pelo menos seis, sendo este impacto psicológico, social e financeiro descomunal tanto para a família como para a comunidade no geral, o que faz do comportamento suicida um problema de saúde pública e torna a sua investigação algo primordial.³⁰

O suicídio é um fenómeno universal que apresenta variabilidade geográfica, temporal e cultural, ocorrendo principalmente em países desenvolvidos e de acordo com a OMS estima-se que por ano se suicida um milhão de pessoas, sendo que a cada 40 segundos uma pessoa comete suicídio no mundo e a cada 3 segundos uma pessoa comete uma tentativa de suicídio não fatal.^{9 20 30} Isto traduz-se no facto do suicídio se encontrar entre as dez principais causas de morte, quando considerando todas as faixas etárias, e entre as três principais causas de morte em jovens (15-35 anos).^{9 13 20 23 30 53 54 67 68 77}

Ainda de acordo com a OMS (2012), as maiores taxas de suicídio são encontradas na Europa, sendo a incidência média da taxa de suicídio na Europa de 13,9 por cada 100.000 habitantes. Na Itália, na França e no Reino Unido, por exemplo, o suicídio representa a segunda causa de morte em jovens.^{13 30} Nos últimos 45 anos os índices de suicídio aumentaram cerca de 60% em todo o mundo, tendo os mesmos relativamente aos jovens aumentado de forma significativa, representando por diversos motivos um grupo de elevada vulnerabilidade. Segundo dados do INE (Instituto Nacional de Estatística), 2010, cit. por DGS (2013), Portugal registou um aumento significativo nas taxas de suicídio com a viragem do milénio, aumentando estas consideravelmente de 2000 a 2002, mantendo-se depois relativamente constantes até 2004, onde depois disso se deu uma descida, que se manteve relativamente constante, com ligeiras subidas e descidas, mas ainda assim apresentando sempre valores de aproximadamente o dobro relativamente ao que se observava no final do século XX (tabela 1).^{28 30 31}

Tabela 1 – Valores anuais da taxa de suicídio global (sexo feminino e masculino) por cada 100.000 habitantes, para Portugal. Tabela de dados adaptada da Sociedade Portuguesa de Suicidologia (SPS) de junho de 2013 ^a

| Ano | 1996 | 1997 | 1998 | 1999 | 2000 | 2001 | 2002 | 2003 | 2004 | 2005 | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 |
|--------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Global | 5 | 4.9 | 4.2 | 5.3 | 5.1 | 7.3 | 11.7 | 10.5 | 11.5 | 8.8 | 8.4 | 9.6 | 9.8 | 9.6 | 10.4 | 9.6 |

O comportamento suicida abrange um vasto conjunto de manifestações, desde a ideação suicida, às ameaças e gestos de risco e tentativas de suicídio, até ao suicídio consumado.^{2 7 9 10 13 57} Uma dúvida que surge face a tantas etapas é se estas serão gradações de um mesmo fenótipo, havendo assim um espectro suicida, ou se constituirão entidades nosológicas diferentes. Aparentemente são tudo a mesma “doença” mas com diferentes graus de gravidade, um dos factos que corrobora esta hipótese é, numa mesma família, podermos identificar ideação suicida, tentativa de suicídio e suicídio completo.

Contudo, certas características dos comportamentos suicidas levam a que alguns autores se inclinam mais para a hipótese destas gradações constituírem entidades nosológicas diferentes. No caso das tentativas de suicídio onde não chega a haver um desfecho letal, há fortes suspeitas de não haver verdadeira intenção suicida (para-suicídio), corroborada em parte pela constatação que nos casos em que acaba por ocorrer efetivamente a morte 75% são realizados na primeira tentativa.¹¹ Apesar disso, a questão do continuum fenotípico parece também muito plausível, pois é clara a existência de uma relação entre as tentativas de suicídio e o suicídio consumado, nomeadamente o facto de a história de tentativa de suicídio anterior ser o maior preditor para um suicídio completo.^{2 9 11 20}

Porém, começa a considerar-se possível que a relação que existe entre estes diferentes comportamentos tenha a ver com aquilo a que chamam de *dor mental*.³⁴ É sugerido que

^a A SPS foi registada no ano 2000, congregando uma grande diversidade de profissões (médicos, enfermeiros, técnicos de serviço social, psicólogos, professores, etc.). De entre as suas iniciativas, tem tido grande impacto a de co-organizar regularmente simpósios em diversas regiões do país de modo a mobilizar recursos médicos e sociais, bem como alertar consciências para a realidade das condutas sociais. Em 2003 foi criado o site (www.spsuicidologia.pt) em que apresentam diversos artigos científicos, entrevistas, dados estatísticos, respostas a questões frequentes, entre outros.

mais de 90% dos indivíduos com tentativa de suicídio apresentam dor mental (apud. Basco-Fontecilla, 2015) e, assumindo que essa dor possa estar presente na maioria das tentativas de suicídio e suicídio completo, isto poderá significar que esta poderá ser o que unifica todos os comportamentos suicidas, embora provavelmente varie de acordo com os vários níveis de comportamento suicida.³⁴

Dadas todas estas formas de comportamento suicida que existem, torna-se importante esclarecer de seguida o significado de cada uma delas.

A ideação suicida (IS) nem sempre implica ato suicida pois o que está em causa é parar de sofrer. Neste caso existem pensamentos acerca da possibilidade de se matar.^{9 11}

Nas tentativas de suicídio (TS) estamos perante situações em que o indivíduo comete um ato com alguma intenção de colocar a sua própria vida em risco ou em perigo, ou pelo menos aparentar esse tipo de intenção, mas que não tem um desfecho fatal e pode resultar em diferentes graus de emergência médica. Na grande maioria dos casos a pessoa não quer efetivamente morrer mas sim parar de sofrer ou até mesmo chamar a atenção, o que leva por norma a ser apresentada uma baixa intenção autodestrutiva.^{6 9 10}

¹¹ De uma maneira geral as tentativas de suicídio podem ser categorizadas em dois grupos (apud Mann 1998) ⁶ – um deles é o do suicídio falhado, que envolve um método mais letal, causando frequentemente danos médicos severos, que é acompanhado de uma forte intenção de morrer embora por razões diversas a morte não seja alcançada; o outro é o para-suicídio que tem maior incidência no sexo feminino, em especial em idade jovem, normalmente após um conflito interpessoal, que envolve um método menos letal, menos danos médicos, níveis mais baixos de preparação e de intenção de morrer, caracterizando-se pela prática de atos que simulam a vontade de terminar a vida, mas com a peculiaridade de deixar certas pistas de modo a que o ato não resulte na própria morte (embora por vezes este tipo de comportamento não seja descoberto a tempo de evitar uma morte, acabando por se tornar num verdadeiro suicídio). Neste último caso acabamos por ter um grupo mais heterogéneo e incluir esta forma mais “suave” de tentativa de suicídio em certos estudos genéticos pode confundir a associação com genes candidatos, pelo que o ideal seria, ao realizar estudos sobre o comportamento suicida, ter uma amostra apenas de pessoas que tenham tentado o suicídio, mas que tivessem uma forte intenção de se matar. Assim facilmente se vê então que a maior diferença entre a tentativa de suicídio propriamente dita e o para-suicídio é o nível de intencionalidade, que é muito superior na primeira.^{6 28}

Já o suicídio (SC) propriamente dito é o ato propositado de cometer um dano físico contra si mesmo que tem um desenlace letal.^{2 9 11}

As tentativas de suicídio são muito mais frequentes que o suicídio completo, e embora os dados a respeito do número de tentativas de suicídio sejam escassos devido à falta de notificação, estima-se que estas sejam 10 a 40 vezes mais frequentes que o suicídio.^{2 10 11 18 12 83} A imprevisibilidade do suicídio é reforçada pelo facto do maior preditor para um suicídio completo ser a história de tentativa de suicídio anterior, ou seja numa minoria dos casos; por outro lado, embora a ideação suicida seja vista também como um importante valor preditivo para o risco de suicídio,^{2 9 11 20 55 57} menos de 1 em cada 200 pessoas com ideação suicida procede ao suicídio (apud. Gunnell et al., 2004)⁵⁵; e tendo em conta Nock et al. (2008)⁵⁷ referirem que um terço das pessoas com ideação suicida irão cometer uma tentativa de suicídio, estas últimas e as que completam o suicídio podem então representar subgrupos distintos (apud. Nock et al., 2008).⁵⁴ Por sua vez, as pessoas que tentam suicidar-se poderão representar um subgrupo distinto daqueles que têm ideação suicida, considerando-se assim 3 grupos distintos (apud. Dejong et al., 2010).⁵⁴

Num estudo²⁰ que envolveu a análise de autópsias de suicídios do INML do Centro, de 2003 a 2009, obtiveram que 11,8% dos indivíduos já tinham tentado o suicídio anteriormente, o que se encontra de acordo com os 10% referidos por Jorge Lopez-Castroman (2014)³⁶, e verificaram ainda que a ideação suicida estava presente em 15,5%, sendo esta mais prevalente em homens e indivíduos com mais de 44 anos. Porém, estas taxas parecem aumentar consideravelmente quando estão presentes distúrbios mentais, como os distúrbios de humor (apud. Tidemalm et al., 2008)³⁶. Contudo, o suicídio completo parece ser um fenómeno bastante heterogéneo, podendo nalgumas pessoas ser o desenlace de uma decisão planeada e noutras poder dever-se a alterações biológicas no cérebro, como nos casos de bipolaridade ou depressão (apud. Menninger, 1956).³⁴ Acima de tudo, é importante não esquecer que um único fator não é suficiente para desencadear um comportamento suicida.²

A etiologia do comportamento suicida é deveras complexa, existindo vários fatores a contribuir para esta predisposição, entre os quais os fatores genéticos, biopsicossociais, ambientais e culturais.^{9 11 23 30 36 67} Alguns estudos demonstram por exemplo a influência da crise económica face ao aumento do número de suicídios na Europa¹⁹, outros mostram como a baixa religiosidade é um importante fator de ordem cultural a contribuir para o suicídio²⁵ e inúmeros estudos têm apontado os transtornos psiquiátricos como um dos maiores fatores de risco.⁹ Como se pode ver estamos perante uma complexa interação entre diversos fatores, e como tal serão abordados noutro capítulo alguns desses fatores mais aprofundadamente.

É ainda importante lembrar que, embora existam fatores de predisposição para o comportamento suicida, existem também os chamados fatores de proteção. Há estudos que demonstram que, por exemplo, ser casado é um fator de proteção para os homens ao passo que ter um filho com menos de dois anos constitui um fator de proteção para as mulheres (apud. Oquendo et al., 2007)², enquanto não ter filhos parece aumentar o risco de suicídio em 4 vezes.⁶⁷ Além disso a gravidez, o suporte social e as crenças religiosas parecem também constituir fatores de proteção.^{67 68} Segundo a OMS (2006) os fatores de proteção incidem em quatro esferas de indicadores, sendo elas: 1) estilos cognitivos e características da personalidade, 2) o modelo familiar, 3) os fatores culturais e sociais e 4) as crenças religiosas.⁷⁷

Assim como para outro tipo de comportamentos, tem-se tentado apurar um perfil suicida. Um estudo retrospectivo que analisou todas as autópsias de suicídio da região centro (de 1986 a 2001) concluiu que o perfil suicida nesta região corresponde habitualmente a um indivíduo do sexo masculino, com idade entre os 41 e 70 anos, casado, com ocupação profissional indiferenciada e que recorre à intoxicação como meio de suicídio.⁸⁵ Posteriormente, a partir da análise de 172 casos que ocorreram entre 2007 e 2010, o Observatório do Suicídio e Para-Suicídio do Baixo Alentejo designou um “perfil descritivo suicida”, no qual 86,5% dos que tiram a própria vida são do sexo masculino e 80% já tinham um diagnóstico de perturbação mental.²⁵ Generalizando, segundo Saraiva (2010)⁸⁴, o perfil suicida em Portugal tem-se mantido ao longo dos anos, sendo considerado da seguinte forma: homem, com mais de 50 anos, separado, divorciado ou viúvo, desempregado ou reformado, com escassos rendimentos, com baixo nível de instrução, socialmente isolado, não religioso, deprimido, alcoólico, com múltiplos problemas afetivos.

Já um estudo, um pouco mais restrito, pois incluiu apenas na sua amostra estudantes do ensino superior, e no qual foi avaliado não o suicídio propriamente dito mas sim a ideação, foi realizado o Questionário de Ideação Suicida (QIS), cuja pontuação varia entre 0 e 180 (correspondendo o 180 à máxima gravidade de pensamentos suicidas) e que tem como ponto de corte preconizado pelos autores um score de 41 ou mais (que sugere a existência de psicopatologia e potencial risco de suicídio). Neste estudo a gravidade de pensamentos suicidas foi baixa e apenas 7,8% dos estudantes se encontrava acima do ponto de corte, mas com base nos resultados foi obtido um “perfil de risco de estudantes para a acentuada ideação suicida”. Neste caso o perfil aponta estudantes do sexo feminino, solteiros/divorciados e consumidores de drogas e/ou psicofármacos.³⁰ Houve ainda um estudo que sugeriu que o perfil de quem tenta o suicídio depende da idade da primeira tentativa de suicídio (apud. Slama et al., 2009),

dividindo-se assim em dois perfis – um associado com a ansiedade, abuso de substâncias e abuso sexual, relacionado com as tentativas antes dos 26 anos, e outro associado à depressão, quando a tentativa ocorre depois dos 26 anos.⁶⁸

Face a estes fatores que influenciam o comportamento suicida, um dos modelos propostos para o mesmo é o modelo Diátese-Stress, que divide de certo modo em duas dimensões os fatores de risco para o suicídio – a diátese e o stress.^{13 16 41 47} Constituem a *diátese* os fatores de predisposição como a carga genética, as experiências perinatais ou dos primeiros anos de vida, as adversidades na infância, os distúrbios neurológicos e as características da personalidade, ou seja, nada mais nada menos neste caso que a tendência de um indivíduo para o suicídio. Como se observa, a diátese é tanto genética como não genética, sendo esta última maioritariamente resultado das adversidades na infância. Contudo estima-se que a parte hereditária contribua com mais de 50%.^{13 16} Já os fatores proximais como os eventos stressantes agudos, os distúrbios psiquiátricos e os fatores ambientais e sociais recentes constituem a componente *stress*. Consequentemente, as componentes da diátese vão tornar o indivíduo mais vulnerável sob condições de stress.

Um modelo desenvolvido posteriormente foi o Modelo Integrado Motivacional-Volitivo do Comportamento Suicida (IMV) (The integrated motivational-volitional model of suicidal behaviour), desenvolvido a partir do conhecimento de que o suicídio é caracterizado por uma interação complexa entre a biologia, psicologia, ambiente e cultura (O'Connor, 2011) e de que é necessário ir além das categorias psiquiátricas se quisermos entender melhor as causas do mal-estar suicida.⁵⁶ Apesar da grande maioria das pessoas que morrem por suicídio terem uma doença psiquiátrica, a maioria das pessoas com doença psiquiátrica nunca passa por comportamento suicida e assim, embora a presença e acumulação destas doenças seja um fator de risco, estas parecem ter um pequeno poder preditivo e parecem, segundo o IMV, não ter influência em relação ao porquê das pessoas se tentarem matar.⁵⁷

Este modelo destaca o desafio de se prever com sensibilidade e especificidade não só quem vai desenvolver ou não pensamentos suicidas, mas também quem vai agir sobre esses pensamentos e quando, e divide-se em 3 fases (figura 1):^{56 57}

- Fase pré-motivacional – Inclui a diátese, o ambiente e os eventos de vida, que no fundo proporcionam o contexto biossocial mais amplo para o suicídio
- Fase motivacional – É determinada por certos sentimentos onde o comportamento suicida é visto como uma solução, em que, ao estarem presentes certos

moderadores específicos, como os problemas sociais e o pensamento negativo em relação ao futuro, são feitas então determinadas transições de comportamento

- Fase volitiva/de vontade – É quando se passa efetivamente ao comportamento suicida, graças a moderados volitivos, como a impulsividade, o acesso a determinados meios e a imitação

Além disso, classificaram ainda em 4 grupos os fatores associados ao risco de suicídio, sendo eles: ⁵⁷

- Diferenças individuais e personalidade – Estes fatores têm especial interesse pois são praticamente estáveis na idade adulta. Temos por exemplo o pessimismo em relação ao futuro, havendo estudos que o definem como um forte preditor do comportamento suicida (apud. Beevers & Miller, 2004; Brezo et al., 2006; Nock & Kazdiz, 2002; Joiner et al., 2005; Hawton et al., 2005) embora outros sugiram que outros fatores poderão ter maior utilidade na predição do comportamento suicida (Price et al., 1994; O'Connor et al., 2013); a impulsividade, que embora tenha sido estudada durante décadas, a sua associação com o risco de suicídio parece não ser tão consistente como se pensava inicialmente e o seu efeito poderá não ser tão direto (apud. Brezo et al., 2006; Watkins & Meyer, 2013); o perfeccionismo, que embora tenham sido realizados ainda poucos estudos as evidências sugerem que este está associado quer à ideação quer às tentativas de suicídio (apud. O'Connor, 2007; Roxborough et al., 2012); o neuroticismo em altos níveis aliado a baixos níveis de extroversão; o otimismo e a resiliência, embora pouco estudados têm sugerido que pessoas otimistas têm um risco reduzido de ideação ou tentativa de suicídio quando confrontadas com adversidades (apud. Hirsch et al., 2007).⁵⁷
- Fatores cognitivos – Como o destemor e a insensibilidade à dor e a dificuldade em resolver problemas.⁵⁷
- Fatores sociais – Como é o caso do isolamento social e a ausência de suporte social, assim como o comportamento suicida de familiares, nomeadamente dos pais, que parece afetar mais na fase infantil comparativamente à fase de adolescência/adulta (apud. Geulayov et al., 2012).⁵⁷
- Adversidades – Quer sejam as adversidades na infância quer as vivenciadas na idade adulta, incluindo as doenças físicas.⁵⁷

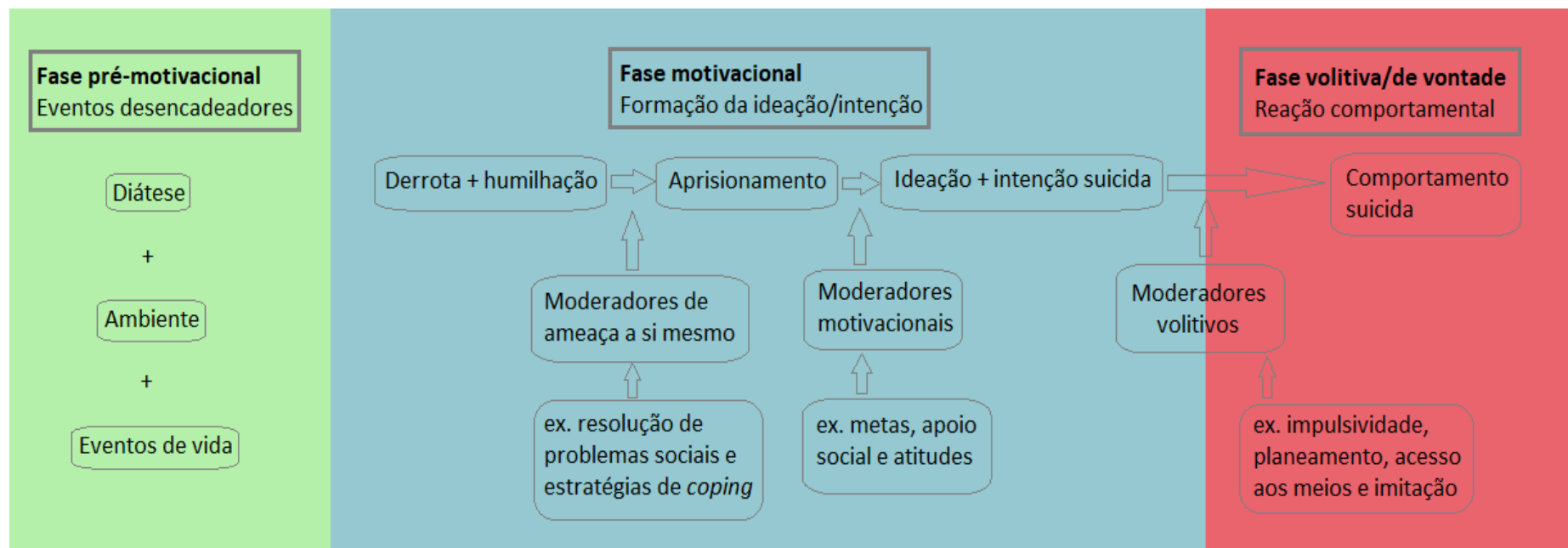


Figura 1 – Modelo Motivacional-Volitivo Integrado do Comportamento Suicida (IMV), adaptado de O’CONNOR & NOCK (2014)⁵⁷

Diferentes aspetos do modelo IMV têm sido testados, sendo os resultados encorajadores ⁵⁶
⁵⁷, como a exposição ao suicídio, a impulsividade e a ausência de medo presente em pessoas que tentaram o suicídio ou que morreram por suicídio (apud. Dhingra, Boduszek & O'Connors, 2015) e o pensamento negativo em relação ao futuro ser um fator chave no processo suicida (apud. Hunter & O'Connor, 2003; O'Connor et al., 2000; O'Connor et al., 2004).⁵⁷

Ao longo dos anos foram também elaboradas diferentes teorias, como é o caso da Teoria de Integração Social do Suicídio (apud. Durkheim, 1897/1951) que tinha como base o facto de pessoas com alto nível de integração sentirem-se mais amadas podendo ter um menor risco de suicídio, enquanto pessoas com baixo nível de integração se poderiam sentir indesejadas, excluídas ou rejeitadas. Assim, pessoas solteiras e divorciadas teriam menos contacto com outros membros da sociedade pelo que mais dificilmente se sentiam parte da comunidade, facilitando o comportamento suicida. ⁵⁸ Outra teoria é a Teoria Interpessoal do Suicídio (apud. Joiner, 2005; Van Orden, Smith, Chen & Conwell, 2015) que tem como pilar a interação social, acreditando que esta funciona como o “sistema imunitário” na etiologia do suicídio.⁵⁸

a) DIFERENÇAS ENTRE SEXOS

É bem sabido que o comportamento suicida, nomeadamente no que diz respeito à letalidade, difere bastante entre homens e mulheres.

Falando especificamente na Europa, sabe-se que tipicamente os homens têm taxas mais baixas de tentativas de suicídio quando comparado com as mulheres e ao mesmo tempo têm taxas mais elevadas de suicídio completo, sendo a principal explicação para este acontecimento o facto dos homens usarem métodos mais letais. ^{9 1113 19 20 41 57 67 77}
Estima-se que os homens tenham uma probabilidade quatro a seis vezes maior de cometer suicídio face às mulheres e que 80% dos suicídios completos sejam realizados por homens, ^{2 5 11 13 29} embora na China por exemplo isto não se verifique ^k. Num estudo^u que envolveu autópsias de suicídios do INML do Centro (2003 a 2009) verificou-se que 77% dos suicidas eram do sexo masculino, sendo maior o número de suicídios no sexo masculino em todas as categorias de idade, o que reforça o que foi dito anteriormente.

Em Portugal os dados estão em concordância com isto, segundo dados do INE (2013) a taxa de mortalidade por suicídio nos homens foi de 13,1 por 100.000 habitantes ao passo que nas mulheres foi de 3,3, o que denota uma diferença significativa.^{31a} Se observarmos, mais concretamente, apenas a região do Alentejo, os dados apontam no mesmo sentido (44,1/100.000 habitantes nos homens e 14,6 nas mulheres, 2012), como se observa na figura 3.^{31a}

Contudo, tem havido uma tendência do aumento do suicídio entre as mulheres, que poderá ter relação com o fator crise económica.³²

Existem alguns fatores que podem contribuir para a existência desta diferença entre géneros como o contexto social, na medida em que os homens têm maior relutância em procurar ajuda e o isolamento social pode diminuir as hipóteses de obter ajuda atempadamente.

b) DIFERENÇAS NA IDADE

É de referir que, além das taxas de suicídio tenderem a aumentar com a idade, a uma idade mais avançada estão associados, em geral, resultados mais letais face aos atos suicidas e parece ainda haver uma influência da idade sobre a escolha do método. O gráfico da figura 2, que representa dados da Alemanha, Hungria e Portugal, demonstra bem esta relação.¹⁸

Um estudo na Coreia confirma o aumento das taxas de suicídio com o aumento da idade, mas afirma que este é independente do género (apud. Park et al., 2016) embora nos países não desenvolvidos ou em desenvolvimento se observem taxas de suicídio mais elevadas entre jovens adultos e mulheres idosas, e taxas mais baixas de suicídio em homens de meia idade, do que nos países desenvolvidos (apud. Fond et al., 2016).⁶⁸ Segundo Saraiva (2010)⁸⁴ em Portugal estamos perante um padrão etário de curva ascendente, como já se verificou, existindo em contraste 3 outros tipos de padrão europeu segundo a idade – curva ascendente, curva convexa e curva uniforme.

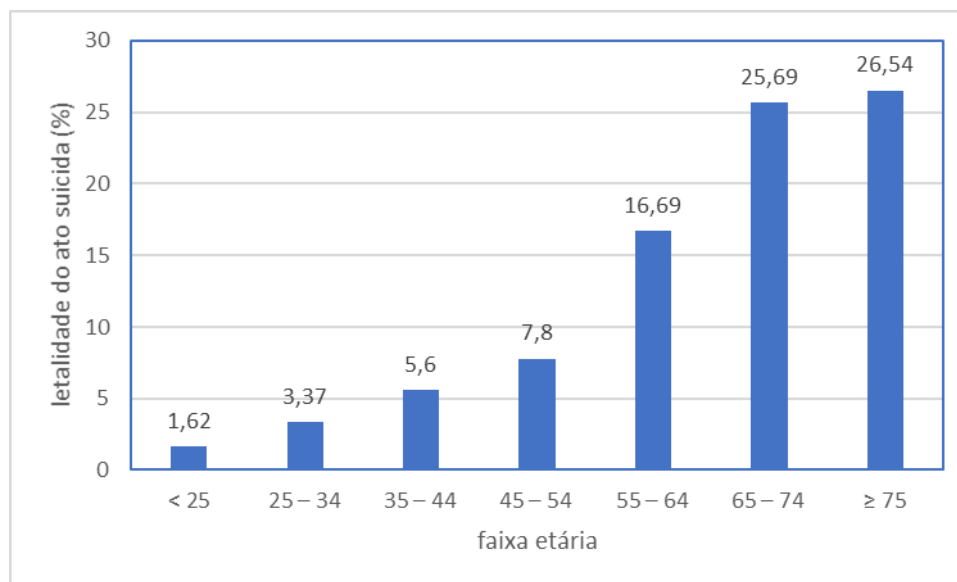


Figura 2 – Letalidade dos atos suicidas em sete grupos etários. Dados referentes à Alemanha, Hungria e Portugal.¹⁸

Uma comparação das taxas de suicídio entre os Estados Membros da União Europeia (UE) denota que Portugal teve uma das taxas mais baixas de suicídio em 2011, face a outros países, com o valor de 7,72 suicídios por 100.000 habitantes (dados da OMS, embora segundo os dados do INE de 2011 o valor seja de 9,6). No entanto, ao considerar-se a faixa etária dos 65 anos ou mais, verifica-se que a taxa de mortalidade por suicídio em Portugal é superior à média Europeia, sendo estes resultados fortemente influenciados pela taxa de suicídio nos homens (36,1/100.000) que é bastante superior à taxa média europeia (29/100.000), como se observa na tabela 2.²⁹

Os dados do INE referentes ao ano 2013 demonstram precisamente o mesmo, sendo claramente evidente esta diferença entre idades. A taxa de mortalidade por suicídio em indivíduos com menos de 65 anos teve uma taxa média de 6,2 por 100.000 habitantes (10,1 nos homens e 2,6 nas mulheres) ao passo que para mais de 65 anos a taxa média foi de 20,9 (37,7 nos homens e 9,3 nas mulheres).^{31a} Porém, relativamente ao intervalo 2010-2014 denotou-se um aumento neste último ano no que diz respeito a pessoas com menos de 65 anos.³²

Tabela 2 – Taxa de mortalidade padronizada por Lesões Autoprovocadas Intencionalmente (suicídio), por 100.000 habitantes, por sexo e grupo etário, nos Estados Membros da UE (2011).
 Fonte: Dados calculador por WHO/Europe, HFA Database, abril 2014 ²⁹ A verde temos a taxa de mortalidade global, para sexo e grupo etário, a amarelo a taxa global por sexo para o grupo etário dos 65 anos ou mais e a laranja a taxa para o sexo masculino com 65 anos ou mais, para Portugal e para a média da União Europeia.

| Lesões Autoprovocadas Intencionalmente (suicídio) | | | | | | | | | |
|---|-----------------|-------|------|-----------|-------|------|-------------|-------|-------|
| Estados Membros UE | Grupo etário | | | | | | | | |
| | Todas as idades | | | 0-64 anos | | | 65 e + anos | | |
| | HM | H | M | HM | H | M | HM | H | M |
| Portugal | 7,72 | 13,03 | 3,28 | 6,39 | 10,17 | 2,85 | 18,51 | 36,15 | 6,70 |
| Alemanha | 9,92 | 15,68 | 4,56 | 8,58 | 13,20 | 3,87 | 20,71 | 35,71 | 10,18 |
| Áustria | 12,83 | 20,58 | 6,03 | 11,00 | 16,91 | 5,13 | 27,66 | 50,34 | 13,33 |
| Bélgica | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| Bulgária | 8,58 | 14,55 | 3,13 | 7,50 | 12,43 | 2,57 | 17,35 | 31,72 | 7,71 |
| Chipre | 3,36 | 5,95 | 0,98 | 3,29 | 5,76 | 0,97 | 3,98 | 7,50 | 1,07 |
| Dinamarca | 9,57 | 14,60 | 4,72 | 8,82 | 13,42 | 4,15 | 15,69 | 24,11 | 9,27 |
| Eslováquia | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| Eslovénia | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| Espanha | 5,74 | 9,12 | 2,63 | 4,93 | 7,60 | 2,25 | 12,30 | 21,47 | 5,68 |
| Estónia | 14,29 | 26,65 | 4,51 | 12,77 | 22,96 | 3,60 | 26,62 | 56,51 | 11,85 |
| Finlândia | 15,85 | 24,99 | 7,01 | 15,68 | 23,99 | 7,15 | 17,24 | 33,05 | 5,86 |
| França | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| Grécia | 3,71 | 6,17 | 1,32 | 3,60 | 5,87 | 1,31 | 4,61 | 8,62 | 1,40 |
| Holanda | 9,10 | 12,73 | 5,59 | 8,93 | 12,42 | 5,41 | 10,44 | 15,31 | 6,98 |
| Hungria | 21,25 | 35,78 | 8,75 | 19,36 | 31,97 | 7,40 | 36,56 | 66,66 | 19,61 |
| Irlanda | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| Itália | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| Letónia | 18,73 | 35,72 | 5,05 | 17,21 | 31,43 | 4,13 | 31,03 | 70,38 | 12,50 |
| Lituânia | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| Luxemburgo | 9,49 | 13,14 | 5,86 | 8,51 | 12,05 | 4,83 | 17,46 | 21,91 | 14,16 |
| Malta | 4,64 | 9,15 | 0,00 | 5,22 | 10,28 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Polónia | 14,60 | 26,67 | 3,40 | 14,38 | 25,76 | 3,18 | 16,40 | 34,06 | 5,17 |
| Reino Unido | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| República Checa | 13,57 | 23,62 | 4,09 | 12,99 | 21,97 | 3,84 | 18,28 | 36,95 | 6,13 |
| Roménia | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| Suécia | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| União Europeia | 10,20 | 16,60 | 4,33 | 9,48 | 15,07 | 3,93 | 16,51 | 29,07 | 7,78 |

É então evidente que, em Portugal, são os idosos quem mais se suicida, notando-se ainda um aumento generalizado das taxas de suicídio com o aumento da idade

particularmente nos homens, nas regiões Centro, Lisboa e Vale do Tejo e Alentejo, representando assim os adolescentes e jovens adultos apenas uma pequena percentagem de todos os suicídios em Portugal.^{20 25 29}

Observa-se de forma muito clara este aumento gradual, por exemplo, na região do Alentejo, a partir da figura seguinte (figura 3) que demonstra a relação entre a taxa de mortalidade por suicídio e a idade, num e noutro sexo.²⁹

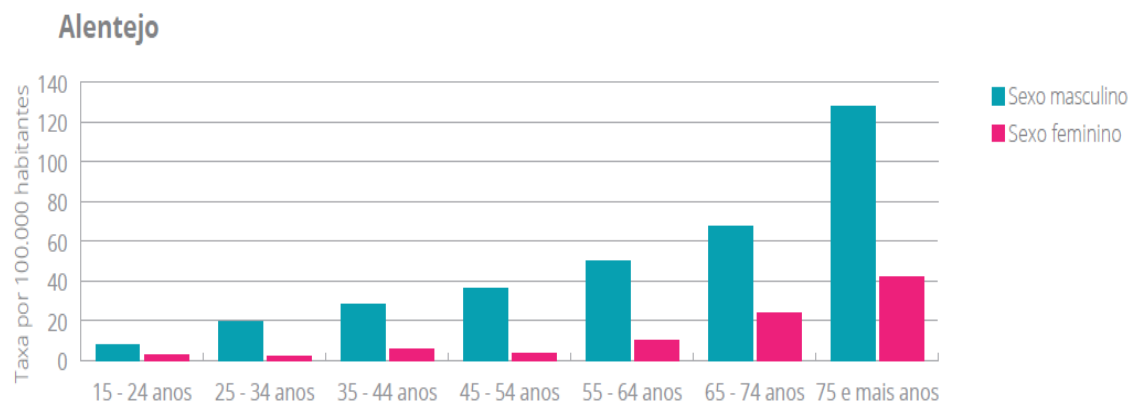


Figura 3 – Taxa bruta de mortalidade por Lesões Autoprovocadas Intencionalmente (suicídio), por 100.000 habitantes, Região do Alentejo (NUTS – 2002), por grupo etário e sexo (2012). Códigos CID 10: X60-X84. Fonte: INE, IP, 2014.²⁹

c) MÉTODO USADO E LETALIDADE

Os métodos usados para o suicídio variam de acordo com vários fatores, como o sexo, o meio social, a acessibilidade, entre outros.

Num estudo (2015) ¹⁸ que envolveu dados de 4 países da UE, incluindo Portugal, foi encontrado que o método mais frequentemente usado pelas mulheres são as intoxicações (87,5% face aos 38,6% nos homens), às quais sobrevivem mais de 90% dos indivíduos, no entanto mesmo quando os homens usam este método obtêm um resultado mais letal. Nesse estudo foi ainda apurado que nos homens, para os suicídios completos, o enforcamento foi o método que surgiu com mais frequência, enquanto analisando apenas as tentativas de suicídio sem desfecho letal as lesões causadas por objetos afiados surgiram com maior frequência. Já para as mulheres, a intoxicação medicamentosa surgiu como método principal para ambos.

No período de 1992 e 2002, 60 a 80% dos suicídios em Portugal ocorreram por enforcamento e autoenvenenamento. O enforcamento, por exemplo, surge como método mais usado por ambos os sexos ao passo que, o uso de armas é predominante no sexo masculino.^{20 22}

Num estudo ²⁰ que envolveu casos de suicídios relativos ao período de 2003 a 2009 foi visto que os métodos de eleição foram o enforcamento (39,1% dos casos, emergindo como método mais usado por ambos os sexos) e o autoenvenenamento (31,9%), o que se encontra de acordo com os dados anteriores. Seguindo-se as mortes por arma de fogo (11,2%), o afogamento (7,2%), a precipitação (5,9%) e o trucidamento (3,6%). Comparativamente ao ano 2001 o autoenvenenamento desceu de posição pois era o principal método escolhido. O facto do enforcamento ser agora mais usual pode dever-se à facilidade da sua execução assim como à melhoria dos cuidados de saúde que leva a que muitos casos de autoenvenenamento sejam revertidos quando encontrados a tempo e o aumento do conhecimento sobre tecnologia, que tem permitido a comercialização de medicamentos com menor efeito tóxico, além da venda de certos medicamentos apenas mediante receita médica.²⁰

No que diz respeito à letalidade, é bem sabido que esta difere bastante entre homens e mulheres. Foi já referido que cerca de 80% dos suicídios completos são realizados por homens, podendo tal dever-se ao facto dos homens usarem métodos mais letais e, além disso, quando comparando os mesmos métodos os homens apresentam um resultado mais letal, o que parece indicar a existência de maior intencionalidade nos homens. Ou seja, denota-se diferenças de géneros tanto na letalidade como na intencionalidade associada ao comportamento suicida.¹⁸ Num estudo⁵ que envolveu indivíduos brasileiros deprimidos que tinham tentado o suicídio observou-se que das tentativas de suicídio que tinham sido violentas, 70,5% tinham sido cometidas por homens.

Tem-se demonstrado ainda que existe uma certa relação entre o consumo de álcool ou drogas (que é suscetível de aumentar a letalidade das tentativas de suicídio) e o sexo masculino, assim como uma combinação de métodos. Neste estudo ²⁰ por exemplo, de todos os indivíduos onde se encontrou presente álcool, 92,3% eram homens. E ainda se verificou que o enforcamento foi o método no qual se encontrou um maior número de casos associados ao álcool, o que nos leva a crer que por vezes estes indivíduos ingerem álcool numa tentativa de ganhar coragem e desinibição para pôr em prática o

ato suicida, embora possam ser indivíduos sem pensamento a priori de suicídio até estarem intoxicados com álcool.³⁴ Além disso foi encontrado um maior número de resultados positivos para os pesticidas nos homens.²⁰

d) CONTEXTO SOCIOECONÓMICO E CULTURAL

Tem sido amplamente mostrado que, para o comportamento suicida, o contexto geográfico e suas implicações socioeconómicas e culturais constitui um fator adicional.¹⁹ Por exemplo, considera-se que a influência dos fatores socioeconómicos e culturais para o suicídio completo é sentida, nos países não ocidentais ou em desenvolvimento, duma maneira análoga às sociedades ocidentais do século XIX, não comparável com as contemporâneas (para as quais se tem a maior parte do conhecimento).³⁴

e) DIFERENÇAS GEOGRÁFICAS

Conforme visto na tabela 2 as taxas de suicídio em diferentes países podem ser muito diferentes. Porém, mesmo dentro do mesmo país observam-se muitas vezes diferenças significativas. Tal é o caso, por exemplo, do Brasil, em que as taxas médias de suicídio se encontram abaixo da média internacional mas, ao considerar-se apenas a região sul, essas taxas são mais do dobro das descritas para o país (9,88/100.000 habitantes).⁸³

Segundo dados de 2011, citados acima, observa-se que Portugal é dos países com uma das taxas mais baixas de suicídio, mas não nos podemos esquecer que isso é uma média do país todo, que não toma em conta a heterogeneidade entre regiões.^{28 29} Embora Portugal seja habitualmente um dos países com taxas médias mais baixas de suicídio da Europa (tabela 2) de acordo com Fountoulakis et al. (2014)⁸⁸ é no continente o único país cujas flutuações na taxa de suicídio entre 2000 e 2012 são ao ponto de não evidenciar-se qualquer tendência neste período.^{19 29}

No caso concreto de Portugal encontra-se um grande contraste entre regiões, utilizando-se como linha divisória da região Norte e Sul a região de Santarém, preferível ao rio Tejo, de modo a incluir a Grande Lisboa na região Sul.⁸⁴ Embora

pareça que a divisão Norte/Sul se está a alterar um pouco, o Norte, apresenta as taxas de suicídio mais baixas do país, tão baixas quanto 2 a 4 por 100.000 habitantes, comparativamente ao Sul, em que chegam a 20 por 100.000 habitantes, revelando taxas três a cinco vezes superiores à média nacional.^{19 22 23}

Existem várias explicações para este visível contraste Norte/Sul relativamente ao suicídio, nomeadamente há uma evidente relação com os fatores ligados ao suporte social, como a densidade populacional, a taxa de natalidade, a taxa de casamentos, etc., mais do que com fatores exclusivamente económicos.²²

O Alentejo é a região que apresenta sempre as taxas mais elevadas de suicídio do país, tanto nas mulheres como nos homens. Sendo uma região extremamente rural, pouco povoada, de população envelhecida, com uma baixa nupcialidade, de pobreza acentuada, de baixa religiosidade e onde as pessoas mais novas tendem para a emigração em busca de condições de vida mais favoráveis, acaba por se tornar numa região desertificada, em que as pessoas mais velhas são deixadas para trás, ao crescente isolamento e falta de apoio.^{22 24 29 84} A figura 4 demonstra de forma inequívoca como o Alentejo é a zona com maior taxa de suicídio em Portugal (2012). Outros dados revelam que no Baixo Alentejo os valores são superiores aos do Alto Alentejo, seguindo-se o Algarve, Lisboa e Vale do Tejo, Açores e a zona Oeste, sendo o Grande Porto a região do país onde se cometem menos suicídios.^{22 24 29}

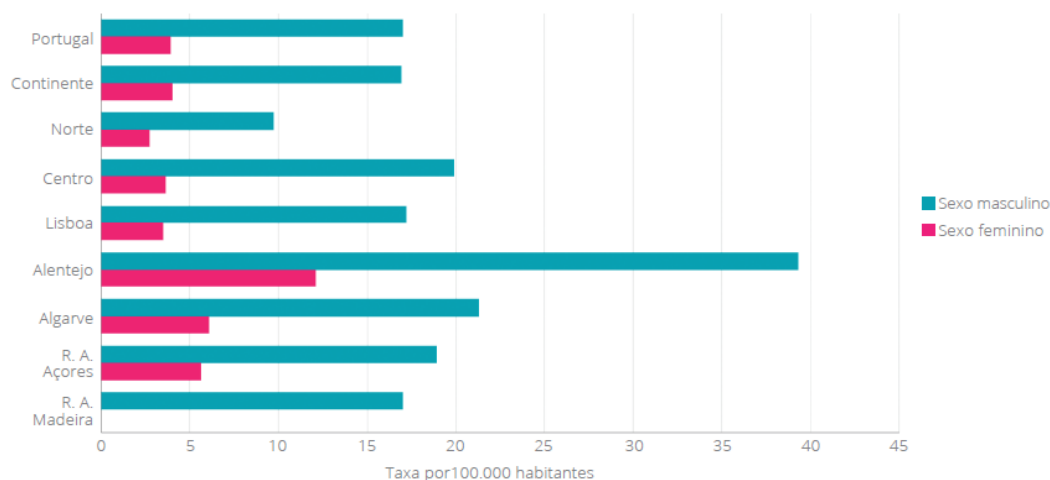


Figura 4 – Taxa de mortalidade por Lesões Autoprovocadas Intencionalmente (suicídio), por 100.000 habitantes, por sexo e local de residência (2012). Códigos CID 10: X60-X84. Fonte: INE, IP, 2014.

Viu-se então que o risco de mortalidade por suicídio é maior nas zonas rurais, apontando-se como algumas causas a menor taxa de natalidade, a menor densidade populacional e envelhecimento da população^{19 22 23}, tendo um estudo feito em estudantes universitários³⁰ observado que existiam mais alunos provenientes de zonas rurais com potencial risco de suicídio comparativamente aos que residiam em zonas urbanas, porém, tem-se visto que se considerarmos apenas as tentativas de suicídio, sem desfecho letal, estas são um fenómeno muito mais urbano.¹⁹

Relativamente ao Baixo Alentejo podem apresentar-se dados ainda mais concretos, nomeadamente no que diz respeito ao concelho de Odemira, o maior concelho do país em extensão territorial, possuindo por isso uma grande dispersão populacional e um difícil acesso aos transportes. Este concelho possui a maior taxa de suicídio do mundo, com um rácio de 61 mortes anuais por 100.000 habitantes em 2005 e 55,6 em 2011, valores que se encontravam muito acima da média do país (9,6 em 2011). Este problema afeta essencialmente os idosos, sendo as principais razões para tal o isolamento, pobreza e a falta de apoio. Apesar de em Odemira se encontrarem estes valores de mortalidade por suicídio tão elevados, além de uma elevada prevalência de doenças mentais, o distrito de Beja, que é onde pertence, é o distrito com maior carência de psiquiatras no país e passou apenas a ter disponível internamento psiquiátrico em abril de 2015.^{24 25} As taxas elevadas de morte por suicídio observadas em Odemira, e no Baixo Alentejo no geral, no período de 1993 a 2010 impeliram a que, em 2009, fosse criado o Observatório do Suicídio e Para-suicídio do Baixo Alentejo.²⁵

Existe por parte de alguns autores a tentativa de relacionar o suicídio no Alentejo com a chamada *síndrome da planície*, que relaciona de certo modo a monotonia da paisagem com o que esta pode provocar emocionalmente a quem a observa ou naqueles que lá vivem.²³

f) INFLUÊNCIA DA ALTURA DO ANO

Relativamente à altura do ano em que ocorrem mais óbitos por suicídio existe uma grande divergência de resultados.

De um modo geral parece existir mais suicídio na primavera e no verão, mais concretamente em maio-junho, dando origem a uma determinada especulação que diz

respeito à depressão (apud. Saraiva, 2006, p.86)⁸⁴. Existe a chamada depressão do “rebentar da flor”, que ocorre na primavera, e em que existe um contraste do indivíduo com a natureza – triste por dentro e alegre por fora, e a depressão do “cair da folha”, que ocorre no outono, e em que o indivíduo se sente em sintonia com a natureza – triste por dentro e triste por fora. O que se propõe é que o contraste sentido na época da primavera torna a dor psicológica mais intolerável, levando muitas vezes ao ato suicida.

Estudos epidemiológicos do departamento de psiquiatria do Hospital de Beja (2001) revelaram que julho é o mês com maior número de suicídios todos os anos, sugerindo que o calor intenso desempenha um importante papel.²³ Já para a região centro, um estudo retrospectivo que analisou autópsias do INML de Coimbra (de 1986 a 2001) concluiu que o mês de maio era o mês com maior frequência de suicídios.⁸⁵ E outro, também referente a indivíduos da região centro (no período de 2003 a 2009) observou que os meses onde havia maior número de suicídio eram o fevereiro, maio e setembro, havendo uma maior prevalência em setembro, e observaram ainda que dezembro tinha sido o mês com menos suicídios. A justificação que se encontra para um maior número de suicídios em setembro deve-se a ser um mês que está associado ao fim das férias e ao consequente regresso ao trabalho e ao stress do dia-a-dia, assim como as alterações climáticas normais da altura, em que os dias começam a ser mais curtos. Além disso ressaltam ainda que em Espanha não se verifica esta relação.²⁰ Por outro lado, dados de 2014 do INE (tabela 3) para o número de óbitos por suicídio por mês, mostram que há uma distribuição bastante homogénea, aparecendo o abril como mês com maior prevalência e os meses de fevereiro e novembro como meses onde ocorreram menor número de óbitos.^{31b}

Dadas estas informações, será provavelmente pertinente não considerar a altura do ano como grande influência para a decisão do ato suicida.

Tabela 3 – Óbitos por causa de morte (CID-10 – lista europeia sucinta), segundo o mês do falecimento, encontrando-se assinalado a laranja os óbitos por Suicídio e outras lesões auto-infligidas intencionalmente.

| Causa de morte | Valor mensal (n°) | | | | | | | | | | | | | Variação Homóloga % |
|--|-------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------------------|
| | TOTAL 2014 | Jan. 2014 | Fev. 2014 | Mar. 2014 | Abr. 2014 | Mai. 2014 | Jun. 2014 | Jul. 2014 | Ago. 2014 | Set. 2014 | Out. 2014 | Nov. 2014 | Dez. 2014 | |
| 51 Algumas afecções originadas no período perinatal | 144 | 11 | 10 | 16 | 8 | 15 | 12 | 12 | 11 | 9 | 18 | 12 | 10 | 2,86 |
| 52 Malformações congénitas e anomalias cromossómicas | 165 | 19 | 17 | 20 | 9 | 12 | 10 | 9 | 8 | 9 | 23 | 14 | 15 | 2,48 |
| 53 Malformações congénitas do sistema nervoso | 17 | 3 | - | 4 | - | 3 | 1 | 2 | - | - | 3 | - | 1 | -10,53 |
| 54 Malformações congénitas do aparelho circulatório | 55 | 2 | 7 | 4 | 4 | 6 | 5 | 4 | 4 | 2 | 7 | 5 | 5 | -12,70 |
| 55 Sintomas, sinais, exames anormais, causas mal definidas | 6 476 | 668 | 676 | 621 | 521 | 452 | 470 | 461 | 452 | 470 | 471 | 506 | 708 | -30,83 |
| 56 Síndrome da morte súbita na infância (do lactente) | 3 | 1 | 1 | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - |
| 57 Causas desconhecidas e não especificadas | 2 841 | 289 | 310 | 313 | 225 | 176 | 224 | 180 | 201 | 219 | 179 | 190 | 335 | -45,17 |
| 58 Causas externas de lesão e envenenamento | 4 818 | 433 | 357 | 374 | 428 | 405 | 360 | 417 | 449 | 379 | 425 | 341 | 450 | 13,95 |
| 59 Acidentes | 2 356 | 160 | 142 | 213 | 170 | 181 | 167 | 182 | 220 | 234 | 198 | 200 | 289 | 16,17 |
| 60 Acidentes de transporte | 815 | 60 | 50 | 62 | 60 | 67 | 52 | 73 | 84 | 74 | 79 | 64 | 90 | 6,26 |
| 61 Quedas acidentais | 618 | 37 | 40 | 46 | 47 | 57 | 40 | 44 | 74 | 56 | 59 | 53 | 65 | 15,95 |
| 62 Envenenamento acidental | 74 | 4 | 8 | 7 | 3 | 4 | 4 | 3 | 4 | 10 | 4 | 7 | 16 | 48,00 |
| 63 Suicídio e outras lesões auto-infligidas intencionalmente | 1 223 | 104 | 85 | 102 | 120 | 110 | 110 | 114 | 107 | 97 | 106 | 71 | 97 | 16,14 |
| 64 Homicídio, agressão | 109 | 7 | 10 | 9 | 5 | 12 | 12 | 10 | 8 | 6 | 11 | 10 | 9 | 12,37 |
| 65 Lesões em que se ignora se foram acidental ou intencionalmente infligidas | 890 | 127 | 106 | 41 | 102 | 90 | 53 | 84 | 94 | 29 | 79 | 46 | 39 | 2,18 |

g) ESTADO CIVIL

Relativamente ao estado civil os resultados também não são muito concordantes, podendo isto acontecer devido ao facto de alguns estudos se referirem a suicídios completos, outros apenas às tentativas de suicídio e ainda outros apenas à ideação suicida, como veremos de seguida.

Num estudo em que avaliaram pessoas que tinham sido admitidas nas urgências após uma séria tentativa de suicídio observou-se uma ligeira maioria de pessoas (53,6%) que eram casadas.⁵ Este resultado encontra-se de acordo com outro²⁰ que analisou suicídios completos, onde a maioria deles (54,5%) tinha ocorrido em pessoas casadas. Porém, é dito que ser casado é um fator de proteção no caso dos homens ² (apud. Balint et al., 2016)⁶⁸ pelo que podia ter algum interesse que nos trabalhos, ao fazerem uma análise da influência do estado civil fizessem uma distinção de géneros. Qin et al. (2003) sugerem que o efeito protetor do casamento no caso das mulheres dever-se-á provavelmente à parentalidade. De acordo com isso, Hoyer et al. mostraram em 1993 que mulheres casadas e com filhos tinham um risco mais baixo de suicídio do que as

casadas sem filhos. Contudo, este efeito protetor da parentalidade estava ausente nos homens.⁶⁸

Porém, regra geral, a taxa de suicídio parece diminuir quando o estado civil corresponde a casado, enquanto ser solteiro ou viver sozinho tem sido classicamente associado com um aumento do risco de suicídio completo (apud. Denney et al., 2009).⁷⁷ Já Durkhiem (1858-1917)⁸⁴ constatava que uma das diferenças observadas acerca do suicídio dizia respeito ao estado civil, sendo este predominante em solteiros. Qin et al. (2003) demonstraram que os homens solteiros tinham maior risco de suicídio que os casados, assim como Kposowa et al. (2000) que mostraram um aumento significativo das taxas de suicídio entre homens divorciados, mas não nas mulheres.⁶⁸

Num outro estudo, embora envolvendo uma população mais restrita, uma vez que envolveu apenas estudantes universitários, detetou-se uma gravidade de ideação suicida baixa, contudo nos estudantes em risco de suicídio mais elevado (com um score ≥ 30 no QIS) foram encontrados valores médios ligeiramente superiores nos estudantes solteiros/divorciados quando comparados com os casados/união de facto.

Por outro lado, José Vasconcelos-Raposo et al. (2016) não encontraram diferenças significativas para os valores de QIS entre solteiros e casados quando compararam estudantes universitários e não universitários.⁷⁷

É necessário ter ainda em consideração que o impacto do estado civil sobre o comportamento suicida também depende de fatores de saúde mental. Por exemplo, na Dinamarca, descobriram que o casamento aumenta o risco de suicídio entre doentes psiquiátricos (apud. Agerbo, 2007).⁶⁸

h) SITUAÇÃO PROFISSIONAL

Alguns dos fatores que possivelmente explicam parte do comportamento suicida têm a ver com a situação profissional e o respetivo rendimento. Vários estudos têm identificado uma associação entre mortalidade suicida e o desemprego e evidências científicas têm sugerido então uma ligação entre esta mortalidade e a crise económica.^{13 19 32 67 68 77}

Parece haver um risco aumentado para o comportamento suicida entre desempregados (apud. Platt & Hawton, 2002) e estudos longitudinais revelam que a força desta associação é maior em homens.⁶⁸ Houve ainda um estudo mais recente (apud. Phillips et al., 2014) que confirmou essa associação entre o desemprego e as taxas de suicídio, neste caso em diferentes áreas geográficas durante a última crise económica, particularmente em homens e mulheres, entre os 45 e os 64 anos.⁶⁸

Num estudo (2014)²⁰ que analisou diversas autópsias de casos de suicídio, descobriu-se que o maior grupo (46,7%) era formado pelos que se encontravam empregados, e 37,8% encontravam-se reformados. Já num outro estudo⁵ foi visto que o número de pessoas empregadas e desempregadas foi mais ou menos semelhante (46,4% e 42,9%, respetivamente), não demonstrando neste caso uma relação do suicídio com a situação profissional.

ALGUNS FATORES DE RISCO PARA O COMPORTAMENTO SUICIDA

Ao longo da evolução e das pesquisas realizadas tem-se visto que os genes só explicam parcialmente o risco para o suicídio, tendo mesmo Blasco-Fontecilla et al. em 2012³⁴ proposto que, mais do que as variáveis biológicas ou genéticas, os fatores de stress poderão ser a melhor maneira para identificar indivíduos com risco de suicídio, propondo ainda que os genes possam ter muito mais importância quando se fala em suicídio completo e pouca relevância no que diz respeito às tentativas de suicídio. Assim tem-se tentado relacionar também os fatores ambientais com essa suscetibilidade, parecendo provável que tanto o efeito direto de genes, a interação de genes, a interação gene-ambiente e ainda os efeitos diretos do ambiente, possam todos desempenhar um papel determinante na psicopatologia do comportamento suicida^{13 16} Contudo, a maneira como e porque é que estes fatores trabalham em conjunto aumentando o risco de comportamento suicida não se sabe.⁵⁷

a) ENDOFENÓTIPOS

Relativamente à questão da genética torna-se desde já importante explicar, de uma forma sucinta, o conceito de endofenótipo. O endofenótipo diz respeito a características fisiológicas, bioquímicas e anatómicas que são encontradas com maior frequência em indivíduos com a “doença”, face à população geral. Assim sendo, o

endofenótipo constitui como que um marcador fisiopatológico que acompanha o desenvolvimento de uma dada "doença", sendo uma característica muito pouco influenciada pelo ambiente. No fundo podemos dizer que são como marcadores de vulnerabilidade, que de certo modo estão já presentes antes da manifestação da "doença" em indivíduos com risco diatésico, o que leva à possibilidade de nos basearmos nestes endofenótipos no auxílio do diagnóstico ou mesmo na investigação de genes candidatos.⁴³ Relativamente à deteção de vias genéticas e biológicas que levam ao risco de suicídio, os resultados até à data parecem promissores.

As características de agressividade e impulsividade, por exemplo, têm sido propostas como endofenótipos do comportamento suicida, na medida em que atuam como fatores de risco para tal comportamento, e preenchem a maior parte dos critérios para serem considerados como tal, uma vez que as pesquisas têm demonstrado o seu estado de independência, transmissão hereditária e co-segregação familiar (ocorrência paralela). Os comportamentos impulsivos e impulsivo-agressivos aparentam ser um denominador comum entre a maioria das pessoas que comete suicídio. Embora a impulsividade e a agressividade sejam características que estão intimamente relacionadas, nem todos os suicídios são impulsivos, contudo um ato suicida é necessariamente uma agressão, para consigo mesmo.^{2 9 13 16 41 84} Outros endofenótipos têm sido propostos, como a tomada de decisões desvantajosas, a raiva, os distúrbios neurocognitivos ou respostas do cortisol ao stress.¹³

b) INTERAÇÃO GENÓTIPO-AMBIENTE

Nos casos em que haja uma predisposição genética, esta pode ocasionar uma dada suscetibilidade ou vulnerabilidade para a manifestação de comportamento suicida face à exposição a fatores de risco ambientais, o que constitui no fundo a interação gene-ambiente.^{2 13}

Esta interação é observável, por exemplo, em diversos estudos com primatas não humanos com privação maternal e humanos com adversidades na infância, que sugerem que alguns genes, como é o caso do gene do transportador da serotonina, aumentam o risco de consequências psicológicas a longo prazo. Por exemplo, ser portador do alelo de baixa expressão do 5-HTTLPR pode levar a que uma história de adversidades na infância leve a um maior risco de que um evento stressante na idade

adulta desencadeie um episódio de depressão ou uma tentativa de suicídio, ou seja, fatores de risco ambiental, como são as experiências adversas, e outro tipo de situações causadoras de stress, podem interagir com a diátese suicida, aumentando o risco de depressão e/ou comportamento suicida.^{7 16}

Em relação ao stress é essencial ter em conta que este não é necessariamente mau. Podemos ter presente um stress mais leve e de curta duração que melhora muitas vezes a memória e a tomada de decisões, aumentando a plasticidade sináptica, refletindo a importância adaptativa de relembrar circunstâncias de ameaça ou perigo. No entanto, quando estes mesmos mecanismos são ativados intensamente ou por um período prolongado poderão provocar efeitos prejudiciais.⁴⁶

As causas ambientais são muitas vezes consideradas apenas contributivas, uma vez que a exposição a estas não gera sempre distúrbio. Em conformidade com os estudos de que se falou anteriormente em primatas não humanos e em humanos, outros estudos, em humanos e animais, revelaram consistentemente variabilidade nas respostas comportamentais dos indivíduos face a ambientes patogénicos e tal heterogeneidade de resposta está associada com a pré-existência de diferenças individuais no temperamento, personalidade e cognição, todos os quais se sabe estarem sob influência genética (apud. Plomin et al., 2001).^{43 86} Estes fatores de risco ambientais vão desde fatores sociais, económicos, psicológicos, culturais e religiosos, características do ambiente, abuso de substâncias, entre outros, e que analisaremos de seguida.^{10 11 19 20 42}

É nas fases do desenvolvimento, desde pré-natal até aos primeiros anos pós-parto, que os indivíduos passam por mais períodos sensíveis, durante os quais a plasticidade permite que fatores genéticos e ambientais exerçam uma influência na manutenção do organismo. Estes períodos modulam a formação dos neurocircuitos, que mediam, regulam e controlam o comportamento. Embora permitam a adaptação, tais períodos sensíveis constituem também janelas de vulnerabilidade durante as quais tanto fatores externos como internos podem conferir risco a distúrbios por desviar certos programas de desenvolvimento.⁴⁸

c) ADVERSIDADES

As adversidades, seja em qualquer altura da vida, contribuem para o risco de depressão, porém, o efeito das adversidades concretamente na infância é mais profundo e duradouro (apud. Brown et al., 2008; Cicchetti & Rogosch, 2009)⁴⁴, isto porque quando o stress é experienciado durante um período muito prematuro poderá ter um impacto eventualmente permanente nas funções cerebrais, comparativamente aos típicos efeitos transitórios que o stress provoca no cérebro adulto.⁴⁶ Como tal, é nas adversidades na infância que vamos manter o foco, tendo sempre presente que mesmo estas poderão variar seja de acordo com a altura em que ocorrem, o modo, a severidade e a duração.⁴⁶

Há muito a explicar no que diz respeito às adversidades na infância, que podem ocorrer de diferentes formas, sobretudo no ambiente familiar, como o abuso emocional, físico e sexual, a negligência física e emocional, a vivência com familiares consumidores de álcool e/ou drogas ou com transtornos mentais, etc. Tem-se verificado que as experiências adversas na infância estão associadas a consequências negativas de diferentes dimensões, incluindo problemas físicos, psicológicos, cognitivos, comportamentais, sociais e emocionais. Existem resultados que apoiam consistentemente esta associação com o aumento do risco de problemas do foro psíquico, nomeadamente a depressão e as tentativas de suicídio na idade adulta. Assim sendo, pessoas que tenham passado por adversidades na infância têm um maior risco de apresentar comportamento suicida quando confrontadas com fatores de stress na idade adulta, que acabam por funcionar como gatilho.^{2 13 16 21 41 55}

Resultados do ACE Study (Adverse Childhood Experiences Study de Felitti et al., 1998)²¹ confirmam fortemente o que se acabou de expor, na medida em que verificaram que indivíduos sujeitos a quatro ou mais experiências adversas na infância ou adolescência têm uma probabilidade 460 vezes maior de vir a sofrer de depressão do que os restantes. Tendo ainda verificado que quanto maior o número de experiências adversas vivenciadas maior o risco de desenvolver uma perturbação depressiva, aumentando ainda o seu grau de severidade, o que é especialmente relevante se se recordar que as experiências adversas na infância são altamente frequentes e com tendência a repetir-se. Além disso, ainda no mesmo estudo, observou-se que a adversidade aumenta ainda o risco de tentativas de suicídio, uma vez que, quem tinha passado por 7 ou mais experiências adversas tinha uma

probabilidade 31,1 vezes maior de cometer suicídio face aos restantes. Além da gravidade do que se acabou de observar, a literatura sugere ainda que o impacto destas experiências sobre a depressão e as tentativas de suicídio é significativo, cumulativo e destrutivo.^{21 40 52} Relativamente às adversidades na infância há ainda a ter em conta certas questões como o sexo da vítima, a identidade de quem abusa, a frequência e o tipo de abuso,^{41 53} sendo um dos achados mais consistentes a associação entre o comportamento suicida e as experiências de abuso sexual (apud. Martin et al., 2004; Bhatta et al., 2014 & Rew et al., 2001).^{53 55}

King et al. (2001) e Fairweather et al. (2006)⁵³ demonstraram que é significativamente mais provável que pessoas que já tentaram o suicídio terem experienciado adversidades comparativamente com pessoas apenas com ideação suicida. Da mesma forma, Liu & Tein (2005)⁵³ mostraram que os eventos de vida negativos ocorrem com mais frequência em pessoas que já tentaram o suicídio, seguidos de pessoas com ideação suicida e por último aqueles que não apresentam comportamento suicida. Numa meta-análise realizada por Liu RT. et al. (2014), 9 dos estudos analisados não observaram relação entre as adversidades e a ideação suicida, porém, 32 dos estudos analisados relacionaram positivamente as adversidades com as tentativas de suicídio e a maioria dos estudos que analisaram possuía evidências de uma ligação entre a morte por suicídio e as adversidades.⁵⁴ Houve também quem reportasse que o risco de cometer uma tentativa de suicídio era 8 vezes maior nos indivíduos que tinham experienciado adversidades, comparativamente com aqueles que nunca tinham passado por nenhuma (apud. Bhatta et al., 2014)⁵³ e outro que encontrou uma relação entre as adversidades e a ideação suicida especificamente em rapazes (apud. Rohde et al., 1997)⁵⁴. Foi colocada a hipótese de eventos adversos preverem a transição da ideação suicida para as tentativas de suicídio em adolescentes (apud. Borges et al., 2008), embora um outro estudo tenha encontrado um fraco apoio para essa teoria ao analisar adultos (apud. Stein et al., 2010), o que poderá sugerir que os adolescentes serão mais vulneráveis a adversidades do que os adultos.⁵⁴ A contrastar com estes achados, um estudo (apud. Taylor et al., 2005)⁵⁴ encontrou uma ausência de relação entre eventos traumáticos e o suicídio, sendo esta ausência de relação merecedora de atenção, uma vez que este era, com uma margem considerável, o maior estudo a avaliar as adversidades como fator de risco para o suicídio, podendo este resultado dever-se ao facto dos outros estudos aplicarem métodos mais abrangentes na medição das adversidades. Além disso parece haver

uma ligação entre o número de adversidades e o comportamento suicida mas, o impacto das adversidades parece variar quer estas ocorram na infância ou na adolescência.^{53 55} Resultados de um estudo sugerem que os maus tratos psicológicos e o abuso sexual têm um impacto inferior se ocorrerem na infância e um impacto maior quando ocorrem na adolescência (apud. Thompson et al., 2012).⁵³ Contudo é de salientar que nem todas as crianças expostas a tais adversidades irão demonstrar comportamento suicida no futuro.

Esta relação entre as adversidades na infância, os sintomas depressivos e as tentativas de suicídio pode ser explicada através de diversos mecanismos. Esta relação pode não resultar das experiências adversas em si, mas de fatores de risco que lhes estão associadas, como a pobreza e a ausência de apoio social. Um outro modelo sugere que as experiências adversas se relacionam com um conjunto de características como a desregulação emocional, a baixa autoestima, vinculação insegura ou dificuldades interpessoais, e que são essas características que constituem vulnerabilidade para o desenvolvimento posterior de depressão e comportamento suicida. Há ainda outros estudos que evidenciam que as experiências adversas são uma condição ambiental externa que promove diversas mudanças biológicas e que quando essas experiências são repetidas o sistema de stress permanece continuamente ativo afetando assim o sistema límbico (responsável pelas emoções e comportamentos sociais) e o córtex pré-frontal (responsável pelo planeamento comportamental, expressão da personalidade e tomada de decisões), fomentando alterações neuroanatômicas e neurofisiológicas que vão acompanhar permanentemente o indivíduo.^{21 46}

Sugere-se que ocorre um ciclo intergeracional que aponta que pais com problemas sociais, físicos, emocionais e psíquicos expõem os seus filhos a experiências adversas e, estas ao serem preditivas de psicopatologia levam a prever que estas crianças sofrerão mais tarde de perturbações psíquicas, dando continuidade a este ciclo aquando do nascimento dos seus filhos.²¹

d) OUTROS FATORES DE RISCO NÃO GENÉTICO

No que diz respeito aos fatores socioeconómicos, como a pobreza, a condição socioeconómica e a empregabilidade/desemprego, tem-se visto grande influência sobre a mortalidade por suicídio, sendo que num contexto de crise e austeridade há uma tendência para o aumento do risco de suicídio, pois os sintomas de desesperança e depressão tornam-se mais acentuados. As evidências científicas têm então sugerido uma ligação entre o aumento da mortalidade por suicídio e o fenómeno de crise financeira.^{13 19 20 25 32 68} Numa revisão recente de 31 estudos, a investigar a posição socioeconómica na Ásia, revelaram que os fatores com maior associação com o comportamento suicida são os problemas financeiros assim como a baixa educação (apud. Knipe et al., 2015). Relativamente à educação houve ainda dois estudos recentes (Japão e Hungria) a confirmar esse resultado, os quais relataram que os níveis de escolaridade mais elevados estavam associados a um menor risco de suicídio (apud. Kimura et al., 2016; Bálint et al., 2016).⁶⁸ Sendo ainda esse resultado confirmado para a população Portuguesa (2016), num estudo em que avaliaram os níveis de ideação suicida através do QIS em jovens adultos, universitários e não universitários, no qual demonstraram que os maiores níveis de ideação suicida se encontram na população não universitária.⁷⁷

É ainda sugerido que a taxa de suicídio é mais elevada em profissões manuais com poucas qualificações (apud. Robert et al., 2013), o que é confirmado numa meta-análise que envolveu 34 estudos (apud. Milner et al., 2013), que demonstra que empregos que necessitem de uma qualificação mais baixa (como operadores de máquinas e empregados de limpeza) exibem taxas de suicídio mais altas.⁶⁸

A religiosidade também já foi referida e Durkheim (1951) propôs que esta tivesse um papel protetor contra o suicídio devido à ligação entre as atividades religiosas e a integração social. Este efeito protetor foi confirmado por Fernquist & Cutright (1998), que investigaram 21 países (1955-1989) e demonstraram a importância da religião como fator de proteção para o suicídio⁸⁴ e novamente confirmado posteriormente numa meta-análise recente, a 9 estudos, que sugere que depende de fatores culturais, religiosos e de idade (apud. Wu et al., 2015). Este efeito da religiosidade parece ser significativo em países ocidentais, mas não em orientais – não foi encontrada nenhuma relação entre as taxas de tentativa de suicídio e a religião, num estudo conduzido na

Índia e no Vietname.⁶⁸ Porém, um estudo em Portugal (2016) não observou diferenças ao nível da ideação suicida entre indivíduos religiosos e não religiosos.⁷⁷

É ainda importante realçar o papel do álcool e das drogas nesta temática. Estes podem interagir com inúmeros fatores de risco levando ao agravamento dos sintomas depressivos, insónias, sentimento de desespero e altos níveis de agressividade e impulsividade, o que poderá favorecer o comportamento suicida.^{2 30 41 43 67} Uma vez que o álcool tem uma forte tendência a potenciar a agressividade, o abuso de álcool é maioritariamente encontrado em pessoas que tenham cometido um suicídio violento.⁵

Muitos outros fatores podem contribuir de forma significativa para os atos suicidas. No caso das áreas mais rurais, temos por exemplo o grande isolamento social, que se refere a pessoas com mais de 65 anos a viver em aglomerados com menos de dez habitações, o estigma em relação a distúrbios mentais (que leva à resistência à procura de tratamento), as dificuldades financeiras, o fácil acesso a pesticidas e armas de fogo e ainda a baixa religiosidade. Certos meios rurais, como é comum em regiões como o Baixo Alentejo, apresentam assim diversos fatores de risco, e é por isso que parece que quanto maior a ruralidade maior será o risco de morte por suicídio.^{19 25 55}

Os problemas médicos (como as doenças físicas dolorosas e em especial os problemas psiquiátricos), o baixo suporte social, a enorme pressão para o sucesso académico e profissional, que é cada vez mais intrínseca ao ser humano, a orientação sexual, uma vez que é sugerido que indivíduos homossexuais e bissexuais poderão ter maior probabilidade de sofrer de doenças mentais e comportamento suicida (apud. King et al., 2003; Meyer, 2003; Pompili et al., 2014)⁶⁸ e mesmo o efeito *Werther* (que passa por uma imitação do comportamento suicida, advindo o nome de um romance de Goethe onde houve um suicídio que acabou por provocar uma vaga de suicídios) são ainda algumas das motivações para o suicídio.^{11 13 20 32}

O SUICÍDIO E AS DOENÇAS PSIQUIÁTRICAS

Vimos então que os transtornos psiquiátricos, nomeadamente o início ou agravamento de uma doença psiquiátrica, são um dos maiores fatores de risco para o suicídio.^{9 10 63}

No contexto da reação aos eventos stressantes da vida, para além dos padrões de comportamento “normais”, desenvolvem-se em certos indivíduos manifestações patológicas como a depressão e o comportamento suicida. Para que ocorram é necessário que haja uma certa predisposição, como já foi explicado, quer para os distúrbios de humor quer para o comportamento suicida ou muitas vezes para ambos.¹⁶

Aparentemente a sensibilidade ao ambiente, em particular o ambiente social, varia de indivíduo para indivíduo. Havendo um ambiente de apoio durante o desenvolvimento, o indivíduo poderá beneficiar no futuro, ao passo que um ambiente de stress potencializará o sofrimento e o desenvolvimento de doenças psiquiátricas. Porém, indivíduos menos sensíveis ao contexto de desenvolvimento poderão não beneficiar em ambientes positivos nem sofrer face a ambientes negativos (apud. Ellis et al., 2011; Belsky et al., 2015).⁵⁹

A grande maioria dos suicídios apresenta-se como um desfecho letal de alguma doença psiquiátrica, o que se confirma na literatura, nomeadamente num estudo europeu de 2009^u que afirma que 90% de todos os suicídios ocorre num contexto de distúrbio psiquiátrico^{34 41 57 67 77}, tendo sido ainda determinado que o risco de suicídio em pacientes psiquiátricos é de 2,4 a 23 vezes maior relativamente à probabilidade geral (apud. McNamee & Offord, 1994)⁶⁷, no qual a depressão major é o mais comum, estando presente em 40% a 60% dos casos.^{2 9 10 11 16 67 77} Embora o impacto da depressão possa ser minimizado ou prevenido através da sua deteção precoce e tratamento continuado, numerosas barreiras individuais e estruturais, como o estigma e a falta de seguro de saúde, fazem com que muita gente não procure ajuda.⁴⁷ Em Portugal, uma das conclusões de um estudo epidemiológico de 2013 é que apenas 37% das pessoas com depressão major foram a uma consulta médica no primeiro ano da doença, é por isso que é um dos países onde a depressão assume maior gravidade e em que o intervalo entre o aparecimento dos sintomas e o início do tratamento é mais elevado.³² Além disso, mesmo as pessoas que procuram tratamento tendem a pará-lo demasiado cedo ou a receber um tratamento de pouca qualidade.^{47 57} Contudo um único fator não é suficiente para desencadear um comportamento suicida. É por isso que muitas pessoas que sofrem de depressão nunca chegam a cometer qualquer ato suicida e muitos atos suicidas são cometidos por pessoas que não sofrem de depressão.^{2 11}

A depressão pertence ao grupo dos transtornos afetivos ou de humor, sendo a mais comum deles, afetando cerca de 5% da população mundial. É ainda duas vezes mais comum em mulheres, havendo duas explicações para isso – as mulheres e os homens poderão ser igualmente vulneráveis aos fatores causais, mas diferentemente expostos ou poderão ser

igualmente expostos, mas ter diferentes vulnerabilidades. O risco de desenvolver depressão é duas a três vezes maior em pessoas com familiares em primeiro grau com o transtorno.^{10 11 45 47 81} A depressão é muitas vezes dividida em persistente/recorrente, que é no fundo a depressão crónica, e episódica e, aparentemente estas não se ligam de igual forma ao comportamento suicida⁴⁴ podendo esta questão relacionar-se com o facto de que, tendo em conta o conjunto dos indivíduos gravemente deprimidos, 15% destes irão eventualmente nalguma altura cometer suicídio.¹⁰ Estudos clínicos sugerem ainda que cerca de 30 a 50% dos indivíduos com depressão e com história familiar de suicídio tentam eles próprios o suicídio.²

É inegável que existe uma relação entre a depressão e a ansiedade, predominando a noção de que a ansiedade precede a depressão. Contudo, num estudo de Caspi et al. (2007) desafiaram essa noção e os achados mostram que o oposto ocorre quase com a mesma frequência – 73% dos indivíduos que tinham tido depressão acabaram por ter ansiedade e 100% daqueles que foram diagnosticados com ansiedade acabaram por experienciar depressão.³⁹ Sugere-se que um dos fatores genéticos que partilham é o polimorfismo 5-HTTLPR, que será abordado no capítulo *Gene Transportador da Serotonina e os seus Polimorfismos*.⁸⁰

Já foi vista anteriormente a influência do álcool e drogas e existe consenso geral de que um abuso ou dependência juntamente com distúrbios psiquiátricos está associado a um maior risco de suicídio na medida em que o álcool e as drogas têm tendência a levar a um agravamento dos sintomas depressivos.²

A base biológica da depressão tem sido particularmente focada nos neurotransmissores monoaminérgicos, principalmente a noradrenalina e a serotonina, uma vez que se acredita que alterações moleculares e funcionais nos respetivos recetores desempenham um papel fundamental na patogénese da depressão e do suicídio^{10 81 84}. A sua influência no desenvolvimento dos circuitos neuronais tem sido demonstrada através dos efeitos da desregulação destes sistemas de sinalização, sendo constatado que as perturbações são maiores com excesso de sinalização do que quando esta é deficitária.⁴⁸

Recentemente tem sido observado um aumento do risco de suicídio por certos fármacos, como tal tem sido proposto especial cuidado em relação aos antidepressivos indutores de comportamento suicida, essencialmente durante o início do tratamento em pacientes jovens.¹³

QUESTIONÁRIO DE IDEACÃO SUICIDA (QIS)

O Questionário de Ideação Suicida (QIS) (anexo 4), elaborado por Reynolds (1988), é um dos instrumentos de “autoadministração” mais utilizados na prática clínica para a detecção e medição da ideação suicida, apresentando a sua aplicação características psicométricas satisfatórias e uma rápida e fácil aplicação.^{30 70 72 73 77}

O QIS permite avaliar a gravidade dos pensamentos suicidas, graduando os pensamentos relativos ao suicídio entre pouco e muito graves; é composto por 30 itens, que apresentam 7 alternativas de resposta, que avaliam a frequência da ocorrência da ideação, indo desde “nunca tive este pensamento = 0” até “quase todos os dias = 6”. Assim, os resultados obtidos podem variar entre 0 e 180 pontos, sendo que uma maior frequência de pensamentos suicidas corresponde a uma pontuação mais elevada. De acordo com os autores, uma pontuação ≥ 41 será já sugestiva da existência de psicopatologia e potencial risco de suicídio.^{30 70 72 73 77}

Ferreira e Castela (1999)⁸⁹ calcularam a média e o desvio padrão do QIS numa população não clínica, sendo o valor destes 21,32 e 23,88, respetivamente. Nesse estudo referiram ainda que as diferenças existentes entre os valores médios a nível do grupo etário e do sexo não se revelaram significativas. Avaliaram ainda a estabilidade temporal, realizando duas avaliações sucessivas a cada indivíduo distintas, sendo o coeficiente de correlação entre elas no valor de 0,76. De acordo ainda com os autores, o QIS poderá ser aplicado quer individualmente, quer em grupo, não existindo um tempo limite para completar o seu preenchimento e, sendo em média necessários 10 minutos.^{70 72 73}

Embora alguns dos estudos analisados^{30 70 77} tenham recorrido ao QIS, outros recorreram a métodos quantitativos diferentes. Alguns recorreram à utilização da Escala de Intenção de Suicídio (SIS – Suicide Intention Scale, Beck et al., 1974), mas este é um teste utilizado apenas em indivíduos que já tentaram o suicídio.^{1 2 5 11 71} Existe ainda um teste denominado de Escala para a Ideação Suicida (SSI - Scale for Suicide Ideation), que não deve ser confundido com o SIS, e que tem como objetivo identificar e quantificar a intenção suicida.⁷¹

Uma outra escala, também criada por Beck et al. (1974) é a Escala de Desesperança (Beck's Hopelessness Scale — BHS), como foi traduzida para o Português por Cruz (1992) e que avalia o grau de pessimismo e desespero em relação ao futuro, na premissa que a desesperança é um indicador a longo prazo do risco de suicídio em pacientes deprimidos.

Assim, esta escala permite a avaliação da probabilidade de um suicídio futuro;⁷⁰ porém, apesar de encontrar-se traduzida, não está aferida para a população portuguesa.

FISIOPATOLOGIA DO COMPORTAMENTO SUICIDA

Apesar do conhecimento sobre a neurobiologia do comportamento suicida ser ainda limitado, parecem estar claramente identificados três mecanismos neurobiológicos que o influenciam – uma hiperatividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), uma atividade excessiva do sistema noradrenérgico (ambos envolvidos na resposta a eventos stressantes), e uma disfunção do sistema serotoninérgico, que está relacionado com a resposta ao stress e com distúrbios na regulação da ansiedade, impulsividade e agressividade.^{10 11 78}

a) SISTEMA SEROTONINÉRGICO

O sistema serotoninérgico atua em inúmeras funções, como o desempenho motor, regulação do sistema cardiorrespiratório e endócrino, na regulação do sono e apetite, na aprendizagem, na memória, na termorregulação, na percepção à dor, no comportamento sexual, em estados psíquicos como o humor, a dependência química, a depressão, entre outros.^{15 37 69} Além disso, faz parte dos sistemas de resposta ao stress no cérebro, sendo moldado pela experiência de stress na infância que, como vimos anteriormente, determina os padrões de resposta ao stress na vida adulta. Essas respostas determinam a vulnerabilidade para desenvolver transtornos de humor como a depressão, e subsequente progressão para o comportamento suicida.^{9 14 16 69} Embora não se tenha a certeza acerca de todos os detalhes das anomalias do sistema serotoninérgico, parece haver então uma relação do défice de serotonina com a depressão, o comportamento agressivo-impulsivo e o comportamento suicida, quer global^{1 2 3 5 7 9 10 33 41 48 78} quer localmente, pois estudos *post-mortem* e *in vivo* sugerem que níveis insuficientes de serotonina em certas áreas do cérebro poderão estar associados ao comportamento suicida.⁴¹

O dimorfismo sexual na função do sistema serotoninérgico e no eixo HPA fornece evidências que sugerem que o sistema serotoninérgico tem um maior potencial para estimular o eixo HPA em mulheres e assim, estas expressam níveis basais mais

elevados de serotonina e/ou seus metabolitos no tronco cerebral, sistema límbico e córtex (apud. Carlsson & Carlsson, 1988 e Dominguez et al., 2003) e também em resposta a estímulos de medo (apud. Bowman et al., 2004; Heinsbroek et al., 1990 e Mitsushima et al., 2006).⁴⁹

A partir de autorradiografia da serotonina, uma técnica empregue no estudo do metabolismo celular e que localiza substâncias na célula, identificou-se que as regiões afetadas nos casos de depressão, agressão impulsiva e comportamento suicida incluem o córtex pré-frontal orbital e cingulado anterior – regiões envolvidas na inibição comportamental e na tomada de decisões.¹⁶ Assim a hipótese que se coloca é que a deficiência na entrada de serotonina nestas regiões contribui para o risco do comportamento suicida.¹⁶

Vários achados vão de encontro a esta relação entre o suicídio e o sistema serotoninérgico. Em 1976, Asberg et al. demonstraram pela primeira vez que pacientes deprimidos com baixos níveis de ácido 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA) no líquido cefalorraquidiano (LCR), marcador da quantidade de serotonina libertada, tentavam o suicídio com uma frequência significativamente maior do que aqueles que apresentavam altos níveis.^{6 78} Descobriu-se também que, embora o déficit de serotonina esteja presente tanto em tentativas de suicídio fatais como não fatais, os seus níveis são inferiores nas tentativas de suicídio mais letais, e por isso mais graves, o que demonstra uma correlação direta com a letalidade. Desde então que os baixos níveis da transmissão de serotonina têm sido um dos achados neurobiológicos mais consistentes na base do comportamento suicida, o que tem levado à contínua procura de genes do sistema serotoninérgico que estejam relacionados com o aumento da tal predisposição para o suicídio.^{2 6 7 11 13 16}

Apesar disso, há evidências de que as implicações da redução da sinalização serotoninérgica no comportamento suicida dizem respeito a certas áreas encefálicas e não outras. Um estudo nesse sentido, em suicidas, de Bach et al. (2014) encontrou variações nas quantidades de serotonina ou 5-HIAA ao longo dos núcleos da rafe mas não no córtex pré-frontal, sugerindo que a anomalia advém da neurotransmissão e não da síntese propriamente dita.³⁷ Neste estudo, foram excluídos os indivíduos expostos a uso prolongado de antidepressivos, devido ao mesmo tender ao aumento dos níveis de 5-HIAA. Outros estudos em vítimas de suicídio deprimidas descobriram que estas têm níveis mais elevados de 5-HIAA no hipocampo (apud. Owen et al., 1986) e não têm

diferença nos níveis de serotonina no córtex ou na amígdala (apud. Cheetham et al., 1989).³⁷

b) OUTROS SISTEMAS

Apesar do sistema serotoninérgico estar então largamente implicado no fenótipo suicida, como já se referiu, ele não é o único a contribuir para o endofenótipo de tal comportamento mal adaptativo. Outros sistemas de transmissão monoaminérgica como o sistema dopaminérgico e o noradrenérgico, assim como a função do HPA, estão envolvidos na regulação da resposta ao stress e genes destes sistemas estão subjacentes ao desenvolvimento de tendências suicidas.^{2 7 8 13} Estudos em animais e humanos mostram que disfunções no sistema serotoninérgico podem prejudicar a funcionalidade do HPA¹³ e uma análise *post-mortem* de cérebros de vítimas de suicídio mostrou que a concentração de noradrenalina no SNC das vítimas de suicídio é até 73% mais baixa.¹⁰

As monoaminas atuam no corpo humano como neurotransmissores, existindo seis tipos diferentes – dopamina, noradrenalina, adrenalina, serotonina, histamina e melatonina, e são sintetizadas por enzimas, que os formam no corpo celular ou no terminal do neurónio. O conhecimento das vias monoaminérgicas permitiu a compreensão da fisiopatologia dos transtornos afetivos, bem como os mecanismos de ação dos antidepressivos.² As monoaminas são catabolizadas pelas enzimas monoamina oxidase A (MAO-A) e catecol-orto-metiltransferase (COMT) e existem já alguns estudos que relacionam alterações polimórficas nos seus genes com o comportamento agressivo,² sendo que a dopamina parece ter um papel oposto ao da serotonina no que diz respeito à agressividade, promovendo a agressividade enquanto a serotonina a inibe.⁴⁸

A adolescência é um período de grande vulnerabilidade para a saúde mental devido a alterações biológicas em estruturas cerebrais envolvidas nas funções emocionais, que contribuem significativamente para comportamentos de risco e é também um período de exposição aumentada a adversidades.⁵³ Os sistemas monoaminérgicos permanecem plásticos durante a infância e adolescência e, portanto, alterações

permanentes na sua função podem estar subjacentes ao comportamento adulto alterado.⁴⁸

c) COMT E MAO-A

A COMT é a maior enzima catabólica na neurotransmissão de monoaminas no cérebro e a sua participação no comportamento suicida está relacionada com a hipótese de que alterações, tanto dos níveis de dopamina como de noradrenalina, aumentariam o comportamento agressivo.^{2 48} Já a MAO-A é uma enzima mitocondrial que desempenha um papel importante no metabolismo de monoaminas do sistema nervoso central e periférico. Ela oxida monoaminas como a serotonina, a adrenalina e a noradrenalina e a sua baixa atividade vai resultar em níveis elevados desses neurotransmissores no cérebro.¹³ A serotonina não utilizada, por exemplo, é degradada em 5-HIAA pela MAO-A,¹⁵ que como foi visto, em baixos níveis tem uma relação com o suicídio - uma das hipóteses que explica esse fenómeno é por exemplo a história de privação maternal ou violência na infância que podem resultar efetivamente em níveis mais baixos de 5-HIAA no LCR que persistem na idade adulta, podendo assim contribuir para o início precoce de distúrbios de humor, traços de agressividade e impulsividade e o aumento do risco de comportamento suicida.^{16 48}

d) TELÓMEROS

Uma diferença observada entre sexos diz respeito à biologia dos telómeros. Num estudo em que analisaram o comprimento dos telómeros de leucócitos em indivíduos com 26 anos e posteriormente com 38 anos, mostraram que o encurtamento dos telómeros era acelerado nos homens a quem tinha sido diagnosticada uma doença internalizante, como a depressão, ao passo que nas mulheres não foram encontradas associações significativas em nenhuma análise. Outros estudos associam o encurtamento dos telómeros com a suscetibilidade a doenças (apud. Armanios & Blackburn, 2012; Cohen et al., 2013 & Kiecolt-Glaser et al., 2013), nomeadamente a depressão (apud. Hoen et al., 2011). Os maus tratos na infância também têm sido associados com a diminuição do tamanho dos telómeros (apud. Price et al., 2013; Shalev I., 2012) porém, Shalev et al. (2014)⁵¹ não encontraram uma associação. A

expressão e atividade da telomerase está aumentada na presença de estrogénios, o que, se é verdade, torna as mulheres menos suscetíveis ao desgaste dos telómeros nos seus anos férteis. Embora estes achados suportem a hipótese de que as doenças internalizantes afetam o tamanho dos telómeros, também é possível que o seu encurtamento possa ser uma causa da doença, ou mesmo que a associação entre ambas possa ser provocada por uma terceira variável.⁵¹

e) NEUROINFLAMAÇÃO

Existem ainda várias linhas de pesquisa que relacionam a neuroinflamação com os estados depressivos e com o comportamento suicida, nomeadamente o aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias, como é o caso da interleucina 6 (IL-6)^{16 41} e do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α).⁴¹ A elevada expressão em leucócitos de indivíduos deprimidos de citocinas inflamatórias, como as referidas anteriormente e também a interleucina 1 (IL-1), foi associada com um aumento da expressão transcricional do 5-HTT (apud. Tsao et al., 2006), que promove a recaptação de serotonina.⁴² Em contraste com a clara evidência de uma associação entre marcadores inflamatórios e os estados depressivos, existem ainda pequenas evidências a ligar estes marcadores ao comportamento suicida, porém, os dados parecem apoiar a existência de uma associação.⁴¹ Um dos factos que apoia esta teoria é a IL-6, que estimula a resposta imune, promovendo assim o seu papel na luta contra a infeção, se encontrar mais elevada em indivíduos com tentativa de suicídio, em especial nas tentativas mais violentas, correlacionando-se ainda com a severidade da depressão.¹⁶ Outro resultado que tem parecido consistente sugere ainda que pessoas com comportamento suicida têm além de um aumento dos níveis de IL-6 uma diminuição dos níveis de IL-2.⁴¹

f) NEUROTROFINAS

Além da relação que parece haver com estas citocinas pré-inflamatórias, as neurotrofinas parecem ter também uma determinada ligação com o comportamento suicida. As neurotrofinas são proteínas pertencentes à família de fatores de crescimento, que favorecem a sobrevivência de certos neurónios, impedindo a

apoptose, sendo as mais conhecidas o NGF (fator de crescimento neural), o BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro), o NT-1, NT-3 e NT-4 (neurotrofinas 1, 3 e 4). Em 2007 alguns investigadores encontraram baixos níveis de BDNF em suicidas, designadamente no hipocampo (apud. Dwidevi et al.).^{84 b}

A GENÉTICA, AS DOENÇAS PSIQUIÁTRICAS E O COMPORTAMENTO SUICIDA

Como se viu noutro capítulo a genética explica apenas parcialmente o fenótipo do comportamento suicida, e mesmo das doenças psiquiátricas. É necessário que exista uma combinação de fatores, desde emocionais, socioculturais, religiosos e biológicos, a contribuir para a propensão individual, de modo que o envolvimento genético seria apenas mais um fator a contribuir para o desfecho, que neste caso seria a tentativa de suicídio.^{2 3 7 8 9 10 13}

Uma vez que agora se está a falar na temática da genética há que referir que os fatores genéticos tanto podem ser de predisposição, aumentando assim o risco para o comportamento suicida, como podem ser de proteção, diminuindo o risco de tal comportamento.¹¹ Além disso, os fatores genéticos podem influenciar de diferentes maneiras diferentes afinidades populacionais, potenciando assim por vezes um efeito de predisposição para algumas populações e um efeito de proteção para outras.¹³ Contudo os outros fatores a que me referi, como os fatores ambientais, também podem ser de risco ou de proteção.²

Os estudos familiares, em especial com gémeos e mesmo com indivíduos adotados, são algo de extrema importância quando se procura demonstrar uma relação com a genética, pois tenta-se de certa forma separar a componente genética da ambiental. Assim têm-se conseguido encontrar evidências favoráveis à participação da componente genética na etiologia do suicídio, como por exemplo uma maior taxa de concordância para a tentativa de suicídio e para o suicídio completo entre gémeos monozigóticos face aos dizigóticos, e também taxas de concordância superiores em parentes biológicos comparativamente aos

^b É nesta área, das neurotrofinas, que a investigadora Alda Ambrósio se tem distinguido na busca de uma associação genética entre certos polimorfismos e condutas suicidas. Sobre esta temática o seu póster “Neurotrofinas e suicídio: associação entre o SNF S205L do gene P75NTR e o suicídio no sexo masculino” (2010) foi galardoado com o Prémio Abbott II Products nas “8as jornadas sobre Comportamentos Suicidários” (Luso, 2010) ⁸⁴

adotivos. Além disso, há ainda estudos que sugerem que, tanto nos suicídios consumados como nas tentativas, existe uma base genética comum.^{2 6 9 10}

É observável nas famílias uma transmissão de características comportamentais dos pais para os filhos e é por isso que certos transtornos mentais são comuns em famílias, o que denota o poder da genética e do ambiente em que se cresce no comportamento.^{2 13 47} É assim que as evidências têm vindo a crescer no que toca à importância do papel dos genes na predisposição às doenças psiquiátricas e ao comportamento suicida, demonstrando os estudos em gémeos que a genética contribui com 21 a 50% da variabilidade no caso do comportamento suicida.^{8 10 13 33 41 47}

Embora se tenha visto acerca do comportamento suicida ter uma componente genética em parte dependente da presença de distúrbios psiquiátricos, há evidências epidemiológicas que mostram que as tendências suicidas ocorrem em famílias independentemente da presença de distúrbios psiquiátricos.^{7 11 13}

Outro forte indício são os resultados de quando se estuda o risco de suicídio em pessoas com história familiar de comportamento suicida. É sabido que muita gente que tentou o suicídio tem antecedentes familiares compatíveis com história de suicídio e parece haver um risco para o suicídio até seis vezes maior para parentes de suicidas quando comparados com o resto da população.^{2 10 11 41 67} Porém, numa meta análise (apud. Schaffer et al, 2015)³⁴ que se focou no suicídio completo, obtiveram que apenas 14% dos suicidas tinha história familiar de suicídio.³⁴ Já no que toca à ideação suicida, alguns autores (apud Brent et al.)¹⁰ concluíram que não se relaciona com a transmissão familiar – que o risco de suicídio era sim maior em pessoas que tinham algum familiar que se tinha suicidado ou tentado mas não naqueles que possuíam familiares apenas com ideias suicidas – porém há quem discorde.

No que toca à genética, de uma forma bastante mais concreta, podemos dizer que existem variações nas sequências de DNA que podem alterar a expressão e/ou o funcionamento do produto dos genes, podendo assim aumentar o risco do comportamento suicida. A essas variações dá-se o nome de alelos, e são consideradas polimórficas quando têm uma frequência de pelo menos 1%, e que podem estar relacionadas com uma função alterada.^{2 10}

¹¹ Diferentes tipos de polimorfismo ocorrem comumente no genoma humano, como os *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) e as *copy number variations* (CNVs), destacando-se nestas últimas os polimorfismos de comprimento - os *short tandem repeats* (STRs)

conhecidos como microssatélites e os *variable number of tandem repeats* (VNTRs) conhecidos como minissatélites.

Os SNPs, como o nome indica, são polimorfismos de substituição de um nucleótido e podem ocorrer em qualquer parte do genoma. Os CNVs também podem ocorrer na estrutura de genes sem alterar completamente a função da proteína. Já os STRs e os VNTRs tratam-se de repetições de pequenas sequências de DNA que apresentam alta variabilidade nas populações devido ao facto de acumularem mutações (número de repetições) mais rapidamente e são bastante usados na identificação humana, como por exemplo nos testes de paternidade. O que difere os STRs dos VNTRs é o tamanho, ou seja, o número de pares de bases que se repetem.¹¹

A participação de determinados polimorfismos pode favorecer uma maior vulnerabilidade a determinados indivíduos, levando assim a que estes, quando submetidos a condições específicas de stress, possam ter atitudes suicidas.¹ Muitos polimorfismos já evidenciaram a sua participação no desfecho do comportamento suicida mas com um efeito moderado ou com resultados controversos ou inconclusivos.² Vários estudos em genética humana têm identificado polimorfismos na via serotoninérgica como potenciais influenciadores tanto das doenças psiquiátricas como do comportamento suicida e além deles, polimorfismos de genes circadianos também têm sido relacionados com a suscetibilidade a determinadas perturbações de humor, como a depressão major.⁸⁶

Já foi referido que o sistema serotoninérgico tem vindo então a ser um dos mais estudados no que toca ao comportamento suicida e, como tal, vários estudos têm investigado como é que variações nos genes que codificam os componentes deste sistema podem conferir a tal suscetibilidade ao suicídio.^{2 3 14} Uma das evidências que demonstra uma relação do sistema serotoninérgico com o suicídio, e não apenas com a depressão em si, como por vezes parece, é o facto de aparentemente o transportador da serotonina ser mais baixo nalgumas regiões do cérebro de pessoas que tinham depressão major e tentaram o suicídio quando comparado com pessoas com depressão major mas que não tinham tentado suicidar-se.¹⁶ Embora o transportador da serotonina seja muito promissor nesta questão é mais provável que a genética do suicídio seja uma consequência de múltiplos genes e interações genéticas complexas,⁶ o que é de certo modo evidenciado num estudo de Papadimitriou et al.⁹ em que se investigou o modo de herança do comportamento suicida em pacientes deprimidos com historial de tentativas de suicídio e se encontrou resultados compatíveis com herança poligénica.

Plomin et al. (2016)⁸⁶ analisaram em detalhe a consistência das descobertas sobre a genética do comportamento humano e o papel das influências ambientais. Um dos focos dessa revisão ("finding 8") é a interação genótipo-ambiente nas correlações fenotípicas do comportamento, donde retiram a consequência de que é necessário pensar na experiência do indivíduo como a moldagem da componente ambiental pela sua arquitetura genética. Por outras palavras, no desenvolvimento do fenótipo comportamental cada um tem a capacidade de, segundo as tendências genéticas, selecionar, modificar e até criar a sua própria experiência.

Por último, é importante referir que se terá de ter sempre em conta que traços comportamentais, doenças e desfechos psiquiátricos como o suicídio são fenótipos extremamente heterogêneos e multifatoriais, pelo que não é possível prever com certeza através apenas da análise do genótipo de um indivíduo se ele um dia irá ou não cometer suicídio. Podem sim, provavelmente, detetar-se situações e casos onde o risco é mais alto e tentar manipular os fatores sobre os quais se pode ter influência (os fatores ambientais) de modo a prevenir essas situações.¹¹

GENES CANDIDATOS

Os avanços no campo da biologia molecular têm permitido o uso de métodos mais sensíveis e rápidos na identificação de genes candidatos, por exemplo associados às doenças mentais. A deteção de variações específicas de DNA é uma grande valia no diagnóstico clínico e assim é feita a identificação desses tais genes candidatos, que são genes que têm, ou se acredita que tenham, um papel biológico no desenvolvimento de uma dada doença.^{2 10}

11 41 47

O conhecimento sobre a responsabilidade dos sistemas neurobiológicos e genéticos para a vulnerabilidade para o suicídio está longe de ser claro, no entanto têm sido propostos e analisados vários genes candidatos.^{11 13 16 47}

O sistema serotoninérgico tem sido o centro das atenções pois vários estudos têm demonstrado que disfunções no seu funcionamento estão relacionadas com uma predisposição para o comportamento suicida. Consequentemente, genes que codificam proteínas que regulam a neurotransmissão da serotonina têm sido propostos como genes candidatos em estudos sobre o comportamento suicida (e mesmo da depressão maior)^{3 6 13}

^{41 47}, nomeadamente o gene da triptofano hidroxilase (TPH1 e TPH2), os recetores (5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} e 5-HT_{1B}) e o transportador da serotonina (5-HTT).^{2 3 7 9 11 84} Em 2000, Lesch¹⁴ constatou que murganhos knock-out para genes do sistema serotoninérgico apresentavam alta agressividade e impulsividade em relação a murganhos tipo selvagem e sabe-se que estes dois comportamentos estão fortemente ligados ao comportamento suicida.¹³

Também já se falou acerca dos endofenótipos, como a agressividade e impulsividade, no caso do comportamento suicida, e potenciais endofenótipos podem então ser identificados em relação ao comportamento em questão e os genes associados a esses endofenótipos podem ser por vezes mais fáceis de identificar do que os genes propriamente ditos associados ao comportamento suicida.^{13 16} Tanto a agressividade como a impulsividade mostram associação positiva com os genes TPH1 (gene da enzima triptofano hidroxilase), 5-HT_{2A} e MAO A, alguns deles abordados mais adiante, embora haja também estudos que apresentam associações negativas.¹³

a) TRIPTOFANO HIDROXILASE (TPH)

O gene que codifica a enzima triptofano hidroxilase (TPH) está localizado no braço curto do cromossoma 11, entre as regiões 11p15.3 e p14. Esta enzima controla a taxa de síntese da serotonina, convertendo o triptofano em 5-hidroxitriptofano (5-HTP), que é subsequentemente descarboxilado, formando a serotonina, e têm sido vários os estudos que investigam a associação entre polimorfismos no seu gene e os atos suicidas, embora existam resultados ainda controversos.^{2 9 11 13 37 52 84}

Num estudo (apud. Walther et al., 2003)¹¹ que envolveu murganhos knock-out para o gene da TPH obtiveram-se animais perfeitamente viáveis, sem qualquer tipo de alteração comportamental. Estes animais apresentaram níveis de serotonina nos tecidos periféricos, particularmente no intestino, drasticamente reduzidos, mas níveis cerebrais dentro da normalidade. Esta constatação levou a uma pesquisa de sequências homólogas às do gene TPH o que acabou por levar à localização de um gene, no cromossoma 12, região q15, que foi chamado de TPH2. Assumiu-se assim que o gene TPH2 seria o responsável pela expressão de TPH no SNC, deste modo alterações neste gene estariam mais relacionadas com o comportamento suicida devido à sua expressão preferencial pelo SNC face ao gene TPH1.^{2 11 84} Foram

reportados níveis elevados de TPH2 no córtex pré-frontal ventral de vítimas de suicídio, sendo essa elevação mais pronunciada nos indivíduos que morreram em suicídios não violentos (apud. Perroud et al., 2010).³⁷

b) RECETORES DA SEROTONINA (5-HTR)

Relativamente aos recetores da serotonina (5-HTR), eles são os responsáveis pela mediação do sinal da serotonina, localizando-se em neurónios pré e pós-sinápticos nas membranas das células nervosas de diversos locais e conhecem-se sete tipos (5-HT₁ a 5-HT₇) embora na bibliografia pesquisada se refiram maioritariamente aos recetores 5-HT_{1A} e 5-HT_{2A}. Os 5-HTR têm sido amplamente estudados em relações com transtornos psiquiátricos como a depressão e o comportamento suicida.¹ A maioria dos estudos para os genes recetores da serotonina investiga SNPs³ e os resultados que se têm obtido são promissores.¹³

O gene do recetor 5-HT_{1A}, localiza-se no cromossoma 5 q11.2-13 enquanto o 5-HT_{2A} se localiza no cromossoma 13 q14-q21. Este último possui três exões e dois intrões, tendo um tamanho de 20kb.

c) TRANSPORTADOR DA SEROTONINA (5-HTT)

O transportador da serotonina (5-HTT) está localizado na membrana pré-sináptica dos neurónios serotoninérgicos e desempenha um papel crucial na regulação da função sináptica serotoninérgica. Na fenda sináptica a serotonina que não chega a atingir os recetores pós-sinápticos é então recaptada para o neurónio pré-sináptico pelo 5-HTT. O facto do gene que codifica o 5-HTT possuir um polimorfismo na região promotora e a diminuição do transportador da serotonina poder ter um importante papel na vulnerabilidade ao suicídio fazem dele um gene candidato para estudos de associação ao comportamento suicida.^{2 3 5 6 12 62 69 78 81 84}

d) MONOAMINA OXIDASE A (MAO-A) E CATECOL-ORTO-METIL-TRANSFERASE (COMT)

As monoaminas, como a serotonina, são catabolizadas pelas enzimas monoamina oxidase A (MAO-A) e catecol-orto-metil-transferase (COMT) e já existem alguns estudos que relacionam polimorfismos destes genes relacionados com o comportamento agressivo.^{2 48}

A MAO é uma enzima mitocondrial, enquanto a COMT é citoplasmática e extracelular e encontram-se ambas em maior concentração no fígado e rins, embora sejam encontradas na maioria dos tecidos. No Homem e noutros mamíferos a MAO apresenta duas formas, MAO-A e MAO-B, que são codificadas por genes localizados no braço curto do cromossoma X, entre as regiões p11.23 e p11.4. Estas duas formas distinguem-se pela sua especificidade por diferentes tipos de substrato; a MAO-A degrada preferencialmente a serotonina e a norepinefrina, e é por isso que é sobre ela que me vou debruçar, enquanto a MAO-B apresenta uma maior afinidade por feniletilaminas e benzilamina.¹⁵

Assim, a baixa atividade de MAO-A resulta em níveis elevados de serotonina (e também de noradrenalina e dopamina) no cérebro o que leva a desordens de humor e comportamento agressivo.^{2 16} De facto, verifica-se que a MAO-A é mais baixa em indivíduos agressivos (apud. Brunner et al., 1993; Buckholtz & Meyer-Lindenberg, 2008; Caspi et al., 2002; Zalsman et al., 2005).⁴⁸

A COMT é a maior enzima catabólica dos neurotransmissores catecolaminérgicos no cérebro e apresenta duas isoformas, a forma solúvel (s-COMT) e a forma ligada à membrana (MB-COMT), ambas codificadas por um único locus, localizado no cromossoma 22, região q11.21.

e) COLESTEROL

Ainda com ligação à serotonina surgiu uma relação entre a hipocolesterolemia e um aumento do risco de condutas suicidas (apud. Golomb, 1998)⁸⁴, na medida em que alterações no metabolismo do colesterol podem levar a um défice de serotonina no cérebro (apud. Brunner & Bronisch)⁸⁴ potenciando um risco aumentado quer para o

comportamento impulsivo/agressivo, comportamento suicida e métodos violentos de tentativa de suicídio.⁴¹ Neste sentido o gene DHCR7 (7-dihidrocolesterol redutase) é um dos genes candidatos no estudo do comportamento suicida (apud. Lalovic et al., 2004).⁸⁴

f) OUTROS

No cromossoma 2 foi identificada uma pequena região, com quatro genes, associada a um maior risco de tentativa de suicídio. Um desses genes é o ACP1 (fosfatase ácida 1), que codifica para uma fosfatase de fosfotirosina proteica, que é expressa no cérebro e aparentemente foi encontrado em níveis superiores aos “normais” em cérebros de pessoas que se tentaram suicidar. Também se associa à catenina beta na membrana celular, baixando os níveis desta no citoplasma, podendo ter um efeito oposto ao do lítio, um fármaco anti-depressivo, que impede a degradação da catenina beta pela inibição da quinase GSK3beta.^{7 41}

O produto do gene ACP1 regula a beta-catenina, uma das responsáveis pela regulação positiva da neurogénese e consequente diminuição do risco de comportamento suicida, e a sobre-exposição ao ACP1 resulta na diminuição citoplasmática de beta-catenina, o que leva a uma diminuição da neurogénese, tornando o gene ACP1 um bom candidato no que toca ao comportamento suicida. O facto de se observar uma expressão significativamente elevada de ACP1 em indivíduos bipolares que se suicidaram é um dos resultados que apoia esta teoria.⁷

Existem ainda três genes que, embora já se tenha confirmado o seu envolvimento no comportamento suicida, têm sido pouco estudados, e são eles o gene que codifica o recetor da serotonina 5-HT_{1E} (HTR_{1E}, SNP rs10944288), o gene que codifica a subunidade pi do recetor A do ácido gama-aminobutírico (GABRP, SNP hCV8953491) e o gene que codifica a alfa-2-actinina (ACTN2, SNP rs707216). Estes três genes são responsáveis pela codificação para a secreção de hormonas relacionadas com o humor e com o comportamento, pelo que mutações nestes genes podem aumentar o risco de suicídio.⁸

Já se referiu também que há estudos que mostram que disfunções no sistema serotoninérgico podem prejudicar a funcionalidade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal

(HPA), por conseguinte, a evidência de associação de polimorfismos de genes envolvidos nessa funcionalidade, nomeadamente ao nível das interações genótipo-ambiente para o risco de suicídio (CRHR1, CRHBP e FKBP5, a que se junta GRIN2B, do sistema glutamatérgico), pode ser muito relevante.¹³

Para alguns genes, estudos que incluam análises haplotípicas ou que examinem uma maior região de codificação dos genes tendem a proporcionar resultados mais fiáveis. O uso desta metodologia de haplótipos ajuda a verificar se um conjunto de polimorfismos num mesmo gene ou em genes em desequilíbrio de ligação pode estar associado a um determinado fenótipo.^{13 14}

Há que lembrar que uma pessoa pode efetivamente possuir esses genes modificados, que conduzem a uma vulnerabilidade para o comportamento suicida, e nunca pensar em suicidar-se, pois como já foi visto, a genética não é tudo.

Posto isto, é apresentada em seguida uma tabela resumo com os genes candidatos aqui apresentados.

Tabela 4 – Apresentação de alguns genes candidatos para o estudo do comportamento suicida.

| CANDIDATO | RESULTADOS |
|--|--|
| <p>SLC6A4/5-HTT (gene do transportador da serotonina) 2 3 5 6 7 9 11 12 15 61 77</p> | <ul style="list-style-type: none"> · O gene mais estudado · A diminuição do transportador da serotonina tem um importante papel na vulnerabilidade ao suicídio ⁶ · Vários polimorfismos têm sido relatados, dos quais os mais estudados têm sido: ^{2 3 15} <ul style="list-style-type: none"> · Um VNTR (repetição em tandem) no intrão 2 · Uma deleção de 44pb na região promotora do gene · Candidato promissor para a suscetibilidade genética de várias doenças psiquiátricas ⁶¹ |
| <p>TPH1 e TPH2 (genes das enzimas triptofano hidroxilase 1 e 2) 2 3 7 9 11 13 48 52 84</p> | <ul style="list-style-type: none"> · A enzima TPH (converte o triptofano em 5-HTP, que é descarboxilado formando a serotonina) controla a taxa de síntese de serotonina, sendo a limitante das taxas da mesma ^{9 11} · A TPH1 é expressa no intestino, glândula pineal, baço e timo, enquanto a TPH2 é predominantemente expressa no tronco cerebral. ⁸⁶ · Associação positiva com a agressividade e impulsividade ^{13 84} · Baixa expressão dos alelos que codificam a TPH2 está associada à emocionalidade negativa e predisposição aumentada para a depressão e comportamento suicida (apud. Gutknecht et al., 2007; Reuter et al., 2007; Zill et al., 2004) ⁴⁸ · Demonstrou-se que a variante 1125 A>T da TPH2 é um marcador para o desequilíbrio alélico, com o alelo T a ser expresso pelo menos 2 vezes o nível do alelo A (apud. Lim et al., 2007), resultando os indivíduos homozigóticos T com uma maior produção de serotonina que os portadores do alelo A ⁵² |
| <p>MAO-A (monoamina oxidase A) 2 13 16 43 48</p> | <ul style="list-style-type: none"> · A MAO-A cataboliza a serotonina (convertendo-a num metabolito inativo) · Alguns estudos relacionam alterações polimórficas nos seus genes com o comportamento agressivo. ² · Associação positiva da expressão reduzida com a agressividade e impulsividade ⁿ · A sua baixa atividade resulta em níveis elevados de serotonina no cérebro o que leva a desordens de humor e comportamento agressivo. ^{2 16} |

| | |
|--|--|
| | <ul style="list-style-type: none"> · Indivíduos cujo genótipo confere baixos níveis de expressão de MAO-A e que tenham sofrido de maus tratos, desenvolvem mais frequentemente transtornos de conduta, personalidade antissocial e crimes violentos que indivíduos com alta atividade de MAO A ⁴³ · Polimorfismos nas regiões reguladores de MAO A, que influenciam negativamente a sua transcrição, estão associados com ansiedade e comportamento depressivo (apud. Schmidt et al., 2000; Tadic et al., 2003)⁴⁸ · Baixa expressão ou perda de função dos alelos da MAO-A têm sido associados ao comportamento agressivo (apud. Brunner et al, 1993; Buckholtz & Meyer-Lindenberg, 2008; Caspi et al, 2002; Zalsman et al, 2005) ⁴⁸ |
| <p>HTR_{1A} (gene do recetor 1A da serotonina) 2 3 7 9 11 48</p> | <ul style="list-style-type: none"> · Os recetores da serotonina são os responsáveis pela mediação do sinal da serotonina, localizando-se em neurónios pré e pós-sinápticos nas membranas das células nervosas de diversos locais. · Abordado (com HTR_{2A} e HTR_{1B}) em estudos de associação genética do comportamento suicida.^{2 3 7 9 11} · Alta expressão da variante do recetor inibitório pré-sináptico HTR_{1A} está associada a emoções negativas e predisposição aumentada para a depressão e comportamento suicida (apud. Lemonde et al., 2003; Schmitz et al., 2009) ⁴⁸ |
| <p>HTR_{2A} (gene do recetor 2A da serotonina) 2 3 7 9 11 13</p> | <ul style="list-style-type: none"> · Associação positiva com a agressividade e impulsividade ¹³ |
| <p>HTR_{1E} (gene do recetor 1E da serotonina) SNP rs10944288,</p> | <ul style="list-style-type: none"> · Responsáveis pela codificação para a secreção de hormonas relacionadas com o humor e com o comportamento, podendo mutações neste gene aumentar o risco de suicídio.⁸ · Já se confirmou o seu envolvimento no comportamento suicida mas tem sido pouco estudado.⁸ |
| <p>GABRP (gene da subunidade pi do</p> | |

recetor A do ácido gama-aminobutírico) SNP hCV8953491,

ACTN2
(gene da alfa-2-actinina) SNP
rs707216 ⁸

COMT
(catecol-orto-metil-transferase)
2 48 84

- A COMT degrada catecolaminas ²
- Surge em alguns estudos como estando associada ao comportamento suicida.²
- A baixa atividade do seu alelo MET tem sido associada com o comportamento agressivo (apud. Volavka et al, 2004a)⁴⁸
- No polimorfismo no cromossoma 22q11, o alelo L parece ser mais frequente em indivíduos com tentativa de suicídio violenta (apud. Rujescu et al., 2003)⁸⁴

DHCR7
(gene da 7-hidrocolesterol
redutase) ⁸⁴

- Alterações no metabolismo do colesterol podem levar a um défice de serotonina no cérebro ⁸⁴
- Foi encontrada uma relação entre a hipocolesterolemia e um aumento do risco de suicídio (apud. Golomb, 1998) ⁸⁴

ACP1
(gene da fosfatase ácida 1) ⁷

- Codifica uma fosfatase de fosfotirosina proteica que é expressa no cérebro e foi encontrada em níveis superiores aos considerados normais em cérebros de pessoas que se tentaram suicidar.⁷

NR3C1
(gene do recetor
glucocorticoide)
41

- A ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) leva à libertação de cortisol, uma hormona esteroide secretada em resposta ao stress e que promove o despertar e a atenção, entre outras alterações fisiológicas. ⁴¹
 - Este eixo encontra-se sob feedback negativo, pela ação do cortisol ao nível do hipocampo. ⁴¹
 - Indivíduos com história de abuso na infância e que morreram por suicídio apresentavam uma marcada redução dos níveis de mRNA do NR3C1 comparativamente com indivíduos que morreram por suicídio e não possuíam história de abuso na infância e indivíduos não suicidas. O eixo HPA encontra-se por isso
-

| | |
|---|--|
| | <p>hiperativado em indivíduos expostos a adversidades precoces, apresentando estes uma responsividade aumentada ao stress face a indivíduos que não experimentaram adversidades em fases precoces.⁴¹</p> <ul style="list-style-type: none"> · Estudos em animais sugerem que o ambiente precoce adverso regula o NR3C1 através de alterações na metilação do DNA.⁴¹ |
| <p>Melatonina 2 4 5 6 7 9 17 18 25 27 86</p> | <ul style="list-style-type: none"> · É sintetizada a partir da serotonina^{2 4 5 6 7 9 15 18 25 27} · Afeta o sono, o humor e comportamento, etc.^{7 17 27} · Evidências apontam para que tenha um papel como antioxidante^{6 7 18 27} e assim, o seu défice é quase sempre acompanhado de efeitos no sistema nervoso, como insónias, depressão, etc.^{6 18} · Evidências apontam para uma relação entre a modificação do ritmo de secreção da melatonina e a fisiopatologia das perturbações de humor.^{4 27 86} · Certos polimorfismos de genes circadianos têm sido relacionados com a suscetibilidade a determinadas perturbações de humor, nomeadamente a depressão major.⁸⁶ · Certos polimorfismos de genes circadianos têm sido relacionados com a suscetibilidade a determinadas perturbações de humor, nomeadamente a depressão major.⁸⁶ · Foram já descritas em doentes com depressão major, concentrações plasmáticas de melatonina diminuídas.⁸⁶ |
| <p>OXTR (recetor da oxitocina) 45</p> | <ul style="list-style-type: none"> · rs2254298 – raparigas heterozigóticas para o polimorfismo expostas a adversidades precoces demonstraram níveis mais elevados de depressão e ansiedade (apud. Thompson et al., 2011)⁴⁵ |
| <p>FKBP5 e CRHR1 (Regulam a atividade dos glucocorticoides e da hormona libertadora de corticotrofina, respetivamente) 47 13</p> | <ul style="list-style-type: none"> · Tem sido mostrado que variações nestes genes moderam o efeito da exposição a maus tratos na infância, adversidades na infância ou eventos de vida negativos na depressão · São candidatos interessantes pois regulam a resposta ao stress via HPA (apud. Gillespie et al., 2009)^{47 13} |

GENE TRANSPORTADOR DA SEROTONINA E OS SEUS POLIMORFISMOS

O gene SLC6A4 (*solute carrier family 6, member 4*) que codifica o transportador da serotonina (5-HTT), é um dos genes candidatos mais estudado quando se tenta compreender a componente genética do comportamento suicida. Este gene está localizado no cromossoma 17, na região q11.1-q12, é composto por 14 exões que abrangem aproximadamente 31kb e uma região codificante prevista de 630 aminoácidos, com 12 domínios transmembranares 79

(http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000108576;r=17:30194319-30236002).^{2 5 6 14 15 17 33 35 38 52 63 65 66 69 78}

O transportador da serotonina é uma proteína transmembranar localizada no terminal pré-sináptico dos neurónios serotoninérgicos e que desempenha um papel fundamental na terminação da neurotransmissão serotoninérgica na medida em que é responsável pela recaptação da serotonina na fenda sináptica, dependente de sódio (Na⁺) e cloro (Cl⁻), reciclando-a ou degradando-a. É ainda o alvo inicial da ação dos fármacos antidepressivos.^{2 11 12 15 17 33 42 52 61 62 63 65 66 69 83}

O 5-HTT desempenha um papel crucial na manutenção da homeostasia pré-sináptica de diversas maneiras: para além de ser o principal efetor da terminação da transmissão de serotonina através da recaptação de serotonina libertada na fenda sináptica, está envolvido na indução de mudanças plásticas das funções serotoninérgicas no cérebro, e desempenha um papel fundamental na regulação da intensidade e duração da sinalização serotoninérgica nas sinapses.^{6 37} A recaptação da serotonina é ainda o principal mecanismo de reposição da reserva pré-sináptica deste neurotransmissor.⁶

Vários estudos filogenéticos têm encontrado evidências de que o locus SLC6A4 sofreu um episódio seletivo a partir de há aproximadamente 20-25,000 anos, na Ásia e possivelmente na Europa (apud. Liu et al., 2013; Chen et al., 2015; Zhou et al., 2015).⁵⁹ Pode ser que sejam os estágios iniciais da evolução de um polimorfismo equilibrado. Os estudos de genómica populacional sugerem, contudo, que a seleção natural não tem sido um fator particularmente importante na evolução dos polimorfismos para a maioria dos genes do sistema dopaminérgico e serotoninérgico.⁵⁹

a) IMPLICAÇÕES NO COMPORTAMENTO SUICIDA

Arató et al. (1987)⁶⁹ foram os primeiros a produzir evidências sobre a relação da sinalização serotoninérgica com o comportamento suicida, comparando a ligação do

fármaco imipramina (um inibidor da recaptação da serotonina – SSRI - que foi usado como indicador da presença de recetor pré-sináptico) nos dois hemisférios cerebrais quer em vítimas de suicídio, quer em controlos normais. Assim, enquanto nos controlos a ligação da imipramina era maior no córtex frontal do hemisfério direito, nas vítimas de suicídio era no maior no do esquerdo. Este resultado não tem sido replicado, mas desde aí têm sido documentadas alterações no funcionamento do 5-HTT em associação com vários transtornos como a depressão, a ansiedade, o transtorno afetivo bipolar, o transtorno obsessivo-compulsivo, a esquizofrenia, distúrbios neurodegenerativos, o abuso de drogas e transtornos alimentares^{15 52 60 61 65}, e é por isso que o gene que o codifica tem sido amplamente investigado em estudos de distúrbios psiquiátricos.^{3 35}

Estudos em ratinhos knock-out para o 5-HTT mostram que a elevada serotonina extracelular se correlaciona com comportamentos emocionais anormais, como ansiedade aumentada, desespero comportamental e comprometimento da interação social (apud. Ansorge et al, 2004; Kalueff et al, 2007; Lira et al, 2003; Moy et al, 2009; Muller et al, 2011)⁴⁸, achados que sugeriram um papel crítico da serotonina na maturação de sistemas cerebrais, modulando a função emocional no adulto, e ainda uma possível explicação para o facto dos alelos de baixa expressão do 5-HTT aumentarem a vulnerabilidade a doenças psiquiátricas.⁶⁶ Além disso, estudos *post-mortem* usando córtex cerebral de suicidas revelaram uma diminuição de transportadores de serotonina disponíveis nos mesmos (apud. Stanley et al., 1982)⁴¹, em conformidade com outros estudos em cérebros de indivíduos deprimidos e vítimas de suicídio (apud. Underwood et al., 2012; Willeit et al., 2000).⁴⁸

b) POLIMORFISMOS DO LOCUS SLC6A4

Vários polimorfismos funcionais têm sido reportados no SLC6A4 (OMIN#182138), sendo os mais estudados um VNTR no intrão 2 e um RFLP correspondente a uma inserção/deleção de 44bp na região promotora do gene a 5' do início da transcrição.^{2 3}

15 12 83

Tem sido estudada a associação deste VNTR com a suscetibilidade a doenças psiquiátricas assim como com o comportamento suicida.^{3 6 14 69} Em 2004, Jernej et al.

demonstraram que o alelo 1010 deste polimorfismo, com menor atividade transcricional, mostrou uma associação estatisticamente significativa com a atividade suicida. Porém, a grande maioria dos estudos que investigam a associação entre o 5-HTT e o comportamento suicida olha exclusivamente para o polimorfismo de inserção/deleção, pois muitos estudos têm observado uma associação entre ambos.^{3 6 14}

O polimorfismo na região promotora do gene 5-HTT, rica em GC, localizado perto de um *hot spot* de mutagênese de deleção (TGCAGCC) (apud. Cooper & Krawczak, 1993)³⁵, envolvendo uma repetição imperfeita de 6 ou 8 elementos e que se localiza aproximadamente 1kb a montante do local de iniciação da transcrição do gene SLC6A4 tem sido o mais explorado relativamente ao comportamento suicida. Este polimorfismo é denominado de 5-HTTLPR (serotonin-transporter-linked polymorphic region) e compreende dois alelos – o alelo com 8 elementos designado long (L) e o alelo com 6 elementos, short (s), considerando-se o alelo L a variante ancestral filogeneticamente.^{2 3 5 6 11 12 14 15 33 35 52 59 61 62 63 64 66 69 76 80} Num estudo de Nakamura et al. (2000), em que examinaram em detalhe esta região identificaram 10 novas variantes, concluindo que os alelos descritos como s e L estão divididos em 4 e 6 tipos de variantes alélicas, respetivamente.^{61 78}

De modo a testar-se se o 5-HTTLPR contribui para diferenças interindividuais na expressão e regulação do 5-HTT, foram realizados estudos *in vitro* numa linha celular de coriocarcinoma humano placentário (que serve de modelo para os neurónios serotoninérgicos do mesencéfalo), que revelaram ter o alelo L uma atividade basal 2 a 3 vezes mais elevada que o alelo s, promovendo assim uma maior recaptação de serotonina com base na maior taxa de transcrição.^{12 35 52 59 66 69 78 83} Além disso, foi observado que a recaptação de serotonina em linfoblastos é 2 vezes superior em LL do que em células Ls ou ss.^{38 66} Isto significa que o alelo s está associado a níveis mais baixos de mRNA do 5-HTT, assim como uma expressão mais baixa de 5-HTT, nomeadamente na fenda sináptica.^{2 5 12 15 33 38 59 60 61 62 63 80 81} Pezawas et al. (2005)⁹³, através de análises morfométricas, descobriram ainda que portadores do alelo s tinham significativamente menos volume de matéria cinzenta em regiões límbicas críticas para o processamento de emoções negativas, particularmente o cíngulo perigenual e a amígdala, comparando com os indivíduos com genótipo LL. Em 2000, Lesh & Hiels³³ fizeram uma classificação de acordo com estas variantes alélicas, dividindo os

indivíduos em indivíduos s (ss ou Ls), indivíduos de baixa expressão de serotonina, e em indivíduos L (LL), indivíduos de alta expressão.

Vários estudos têm observado um efeito dominante do alelo s face ao alelo L. Como prova disso temos por exemplo o facto da reduzida atividade de transcrição do 5-HTT e consequente redução da recaptção de serotonina, ser semelhante entre os genótipos ss e Ls, sendo a atividade de ambos mais baixa que no genótipo LL, o que sugere então que o alelo s possa ter um efeito dominante.^{3 6 11 33 66}

c) ASSOCIAÇÃO DO 5-HTTLPR COM DISTÚRBIOS PSIQUIÁTRICOS E COMPORTAMENTO SUICIDA

1) Suscetibilidade inerente ao alelo s

A variante curta (s) do polimorfismo 5-HTTLPR tem sido associada à vulnerabilidade aumentada para a depressão, ansiedade, distúrbios afetivos, neuroticismo, dependência de álcool, esquizofrenia, doença de Alzheimer e autismo.^{2 3 6 11 14 48 69 76} Num estudo de Haberstick et al. (2016), embora a prevalência para a depressão se tenha demonstrado semelhante entre os vários genótipos do 5-HTTLPR, pareceu haver um efeito dos episódios passados de stress mais acentuado em homens, especialmente os que têm pelo menos uma cópia do alelo s.⁸¹ Caspi et al. (2003)^{38 43 44 47 48 66 69 76} mostraram que indivíduos com uma ou duas cópias do alelo s exibem mais sintomas depressivos quando estão presentes adversidades, comparativamente aos indivíduos homozigóticos L, embora não tenham observado diferenças significativas no que diz respeito ao número de adversidades; isto evidencia uma interação gene-ambiente, sugerindo a hipótese de que variações no gene 5-HTT poderão explicar porque é que certas condições ambientais levam à depressão numa pessoa mas não noutras.^{79 80 81} Um estudo recente de Juhasz et al. (2015) não demonstrou interação entre as adversidades na infância com o polimorfismo 5-HTTLPR mas, por outro lado, observou que os sintomas de depressão aumentavam em portadores do genótipo ss na presença de eventos negativos recentes.⁸⁰

Além deles, outros autores associaram a variante alélica s com uma maior suscetibilidade ao stress ambiental nalguns indivíduos (apud. Grabe et al., 2012;

Lesch et al., 1996; Xie et al., 2009)⁴⁸, a que se veio juntar um estudo recente de Habersick et al. (2016)⁸¹ com uma amostra de grandes dimensões, onde os valores máximos da prevalência de ideação suicida, em função do número de eventos stressantes, foram atingidos pelo genótipo heterozigótico nas mulheres (seguido das homozigóticas s), enquanto nos homens é pelo homozigótico L (seguido dos heterozigóticos); porém não confirmaram diferenças entre sexos com um teste formal para a interação genótipo ambiente em estudo, e outros autores também não encontraram essa associação (apud. Fisher et al., 2012; Peyrot et al., 2013).⁴⁸ Houve ainda outro estudo, realizado em macacos *Rhesus*, que apresentou resultados no mesmo sentido, com animais que foram expostos a um stress precoce (criados sem a mãe), e que em resposta a stress recente os níveis de hormona adrenocorticotrópica (ACTH), que é secretada como resposta ao stress e que estimula a síntese de cortisol, eram mais elevados nos animais com genótipo Ls que os animais com genótipo LL (apud. Barre et al, 2004)⁴³ ⁶⁹ (apud. Champoux et al. 2002).⁶⁹ Um estudo de Gotlib et al. (2008)⁴⁵ fornece evidências no mesmo sentido, no qual raparigas homozigóticas para o alelo s produziam níveis mais prolongados de cortisol do que as homozigóticas LL.

Ainda noutros achados recentes, os indivíduos com alelo s que sofrem de depressão exibem hipocampos com volumes menores, mas só os que passaram por adversidades na infância e não os indivíduos apenas com o fator de risco genético ou ambiental.⁶⁹ Em contraste, o alelo L parece conferir um efeito protetor, com volumes de córtex pré-frontal maiores nos indivíduos portadores deste alelo (apud. Frodl et al., 2010).⁶⁹

2) Ausência de relação do alelo s com a suscetibilidade

Porém, surgem também resultados noutro sentido, havendo dois estudos que mostraram que indivíduos com genótipo LL expostos a adversidades familiares apresentavam taxas significativamente mais elevadas de depressão ou ansiedade (apud Lauch et al., 2009; Zhang et al., 2009).⁶⁹

Já Fergusson et al. (2011)⁴⁰, através de dados de um estudo longitudinal ao longo de 30 anos, não encontraram evidências que suportem a teoria de que o

alelo s esteja associado com o aumento de suscetibilidade a eventos stressantes, como as adversidades e, sugerem mesmo que é improvável que haja uma interação gene-ambiente reprodutível envolvendo o 5-HTTLPR, o stress e os distúrbios mentais, tendo em conta tanto os resultados que obtiveram como os resultados de outros estudos (apud. Munafò et al, 2009 & Risch et al, 2009)^{40 47 66}, argumentando ainda que os estudos que obtêm resultados positivos para esta associação podem estar a basear-se em medições inadequadas para as adversidades. Porém, uma meta-análise (apud. Karg et al., 2011) concluiu que as evidências eram fortes o suficiente para suportar a interação gene-ambiente no caso do 5-HTTLPR, podendo eventualmente estes resultados conflitantes ser explicados pelas diferenças na seleção dos estudos incluídos nas meta-análises.⁴⁷ Além disso, é de salientar que todos os testes com significância para as interações gene-ambiente realizados no estudo de Fergusson et al.⁴⁰ sugeriram que um aumento do número de genes s leva a uma redução da sensibilidade a eventos stressantes, ao contrário do que foi apresentado por Caspi et al.

3) Diferentes resultados para a depressão persistente e para a episódica

Contudo, em 2011, Caspi et al.⁴⁴ realizaram um novo estudo, cujos resultados podem eventualmente explicar a ausência de relação gene-ambiente antes evidenciada, no qual testaram pela primeira vez a hipótese da depressão persistente e a depressão episódica promoverem resultados diferentes. Como tal, nesse estudo obtiveram resultados positivos para a depressão persistente, mas não para a episódica - homozigóticos ss que tinham passado por adversidades na infância tinham um elevado risco de depressão persistente, mas não de depressão episódica ⁴⁴, o que vai de acordo com o estudo de Juhasz et al. (2015)⁸⁰ e com a sugestão de Brown & Harrys (2008), que a componente genética da sensibilidade aos maus tratos na infância só se expressa na depressão crónica.⁴⁴ Além disso, estudos anteriores propõem que a depressão persistente tem maior heritabilidade (apud. Foley et al., 1998; McGuffin et al., 1996)⁴⁴ e está mais associada com adversidades na infância do que a depressão episódica (apud. Wiersma et al., 2009).⁴⁴ Num estudo de grandes dimensões e com uma revisão crítica das medidas de depressão e dos fatores ambientais,

Haberstick et al. (2016)⁸¹ sugeriram ainda que, na ausência duma influência de eventos de stress, o 5-HTTLPR não está relacionado com o risco de depressão.

4) Contribuição da metilação do DNA

Relativamente ainda à questão interação genótipo-ambiente, houve um estudo em que decidiram avaliar a contribuição da metilação do DNA para a suscetibilidade a doenças, medindo a quantidade de DNA metilado no 5-HTT e noutros genes candidatos em gémeos monozigóticos e dizigóticos, aos 5 e aos 10 anos de idade.⁵⁰ A metilação do DNA é o mecanismo epigenético melhor conhecido, mas não se sabe o quão influenciada é pelos fatores hereditários e pelos fatores ambientais. Os resultados do estudo, ao mostrarem que existem diferenças na metilação do DNA entre gémeos monozigóticos, sugerem que variações de metilação do DNA são pelo menos parcialmente atribuídas a fatores ambientais, encontrando-se poucas evidências de heritabilidade.⁵⁰

5) Inconsistência nos resultados e algumas explicações

Apesar da relação que se tem visto entre o 5-HTTLPR e o suicídio, existem na literatura diversos resultados controversos. A maioria deles aponta para o alelo s como o alelo de suscetibilidade, havendo assim estudos que mostram predominância de indivíduos com genótipo contendo o alelo s (genótipos Ls ou ss), quer em suicídios completos (apud. Bondy et al., 2000)³³, quer em tentativas de suicídio (apud. Anguelova et al., 2003)^{12 78 83}, quer em tentativas de suicídio mais letais em indivíduos alcoólicos (apud. Gorwood et al., 2000)³³; outros estudos demonstram uma associação especificamente entre os genótipos contendo o alelo s e as tentativas de suicídio violentas (apud. Bayle et al., 2003; Bellivier et al, 2000, Bondy et al., 2000; Courtet et al., 2001; Gorwood et al., 2000)⁶; houve dois estudos que encontraram uma associação entre o alelo s e as tentativas de suicídio no sexo feminino, mas não no masculino (apud. Baca-Garcia et al., 2002⁶)³³; e outro que descobriu que a homozigotia s estava associada à presença de história familiar de suicídio (apud. Joiner et al., 2002)⁶.

Porém, há alguns estudos que apresentam o alelo L como o alelo de suscetibilidade, nomeadamente estudos que demonstram uma frequência significativamente maior do alelo L em vítimas de suicídio deprimidas, comparativamente com indivíduos controlo não suicidas (apud. Du et al., 1999; Faludi et al, 2000)⁶ e um outro estudo que encontrou uma relação com a letalidade da tentativa em mulheres, em que a maioria das mulheres com tentativa não letal possuía alelo s e a maioria com tentativa letal encontravam-se no grupo L.³³

Há ainda estudos^{33 60} que aparentemente não mostram qualquer associação entre o genótipo 5-HTT e o suicídio, seja relativamente ao suicídio completo (apud. Mann et al., 2000)³³, a tentativas de suicídio (apud. Geijer et al., 2000)³³ ou indivíduos que se crê terem um risco maior para o suicídio (apud. Russ et al., 2000).³³

Devido a esta inconsistência nos resultados, Pao-Yen Lin e Guochuan Tsai (2004)^{6 12 83} realizaram uma meta-análise, na qual não encontraram uma associação entre o polimorfismo 5-HTTLPR e o comportamento suicida quando comparado com indivíduos controlo normais ($p=0,379$). No entanto, quando analisadas pessoas com o mesmo diagnóstico psiquiátrico, os genótipos portadores do alelo s foram significativamente mais frequentes em pessoas que tentaram o suicídio quando comparadas com pessoas que não o fizeram ($p=0,004$). Uma outra conclusão a que chegaram foi acerca do alelo s e os genótipos portadores deste alelo estarem associados de forma significativa com o suicídio violento ($p=0,0001$).^{6 12 83 84}

Estudos têm revelado que há um risco aumentado para o comportamento suicida em indivíduos deprimidos portadores do genótipo ss ou Ls ^{2 5}; num estudo de Caspi et al. (2003)¹³ os autores descobriram que a ideação suicida era significativamente maior nos indivíduos portadores do genótipo ss com história pessoal de mais de três eventos de vida stressantes; Perez de Castro et al. (1999)¹⁴ encontraram uma associação entre o alelo s e o jogo patológico em homens, deduzindo assim uma relação deste alelo com a impulsividade (normalmente também presente no comportamento suicida); Sakado et al. (2004)¹⁴ fornecem indícios que sugerem uma maior propensão à impulsividade nos portadores do genótipo ss face aos genótipos LL e Ls, estando esse

resultado de acordo com os achados de Perez de Castro et al. Estes são alguns dos achados encorajadores que evidenciam a associação positiva entre o alelo s do 5-HTTLPR e o suicídio, demonstrando a importância que poderá ter investigar-se a relação de tal polimorfismo com o comportamento suicida.^{2 3}

Foi aqui visto também que parece haver uma relação entre a variante alélica s e suicídio violento, pelo menos no que diz respeito a populações caucasianas. Os achados sugerem que há uma diferença significativa na atividade da transmissão de serotonina entre as tentativas de suicídio violentas e não violentas. Ainda no estudo de Pao-Yen Lin e Guochuan Tsai, (2004)⁶ conseguiu-se associar o alelo s ao suicídio violento ($p=0,001$) mas não ao suicídio não violento ($p=1,00$). Parece que os portadores do alelo s (de mais baixa atividade transcricional) são mais suscetíveis de ter pouco controlo sobre o impulso e a agressividade, podendo tender a usar métodos mais letais ao agir ao impulso do suicídio. Porém, as tentativas de suicídio violentas podem representar um grupo relativamente homogêneo, na qual a baixa atividade de serotonina está altamente envolvida, enquanto as tentativas não violentas poderão refletir uma maior heterogeneidade, como por exemplo casos com afinidades ao para-suicídio, em que a tentativa não é violenta propositadamente, pois não existe o verdadeiro desejo de alcançar um desfecho letal. A variação entre grupos populacionais e esta diferença entre suicídio violento ou não violento torna necessária a realização de mais estudos com populações homogêneas e fenótipos bem definidos, de modo a que se possa averiguar melhor esta associação.^{6 13}

6) Influência da etnia

Há então fortes evidências que colocam o alelo s como fator de plasticidade fenotípica, na medida em que tem sido associado a um aumento da sensibilidade a estímulos ambientais, produzindo fenótipos vulneráveis no caso de eventos stressantes negativos ou fenótipos resistentes no caso da presença de ambientes favoráveis positivos. No entanto existem também evidências que colocam o alelo L como variante de vulnerabilidade em certas populações específicas quando expostas a stress.¹³ Uma possível explicação para esta discrepância diz respeito às diferenças étnicas, uma vez que existem diferenças

entre caucasianos e alguns grupos asiáticos no que diz respeito às frequências alélicas.⁷⁹ Na meta-análise de Pao-Yen Lin e Guochuan Tsai (2004)⁶, que incluiu 17 estudos, isto é visível pois a frequência do alelo s no grupo controlo foi 43% para caucasianos e 74% para asiáticos, uma diferença estatisticamente significativa, estando estes resultados a par com os de Serretti et al. (2008), em que a frequência do alelo s foi de 42% para os caucasianos e de 79% para asiáticos.⁷⁹ Outros estudos demonstram como o alelo L está presente em asiáticos numa frequência mais baixa que em caucasianos, por exemplo, o genótipo LL está presente em 29-43% dos caucasianos e apenas em 1-13% dos asiáticos, além disso, o alelo s está presente (isto é, incluindo homozigotos e heterozigotos) em 42% dos caucasianos mas pode ser encontrado em mais de 78% dos asiáticos (apud. Goldman et al., 2010; Kunugi et al., 1997; Kato & Serretti A., 2010).⁶³ Da mesma forma, Nakamura et al. (2000) encontraram diferenças significativas nas frequências alélicas e genótípicas entre caucasianos e japoneses.⁶¹ Já noutro estudo⁴ concluíram que é improvável que o 5-HTTLPR tenha um efeito major no comportamento suicida na população turca.

7) Processamento da dor e o 5-HTTLPR

Um dos estímulos estudado, relativamente à sua associação com o 5-HTTLPR, foi o processamento da dor. Embora se saiba que a serotonina desempenha um papel importante no processamento da dor, a relação entre este polimorfismo e o processamento da dor não é bem conhecida.⁶² A maioria dos estudos parece não encontrar uma relação entre o 5-HTTLPR e o limiar à dor (apud. Palite t al., 2011; Potvin et al., 2010; Schaldemose et al., 2014) mas Hooten et al. (2013) e Lindstedt et al. (2011) observaram que indivíduos com pelo menos um gene s pareciam ser menos sensíveis à dor, contudo os efeitos parecem ser pequenos e inconsistentes.⁶² Contrariamente, Kunz et al. (2016) mostraram que os portadores de alelo s (ss e Ls) têm um limiar à dor inferior aos não portadores (LL), sugerindo que o alelo s poderá ser um fator de risco para o desenvolvimento e manutenção da dor crónica.⁶² No entanto os efeitos foram pequenos e necessitam de replicações antes de se poderem extrair conclusões, mas a convergir com tais resultados temos um estudo em animais (apud. Kesic et al.,

2015) onde encontraram acentuada sensibilidade à dor em ratinhos com baixa atividade do 5-HTT.⁶²

d) VARIANTE L_G (rs25531)

Embora a maioria dos trabalhos analise o 5-HTTLPR na forma bialélica, ou seja, considerando apenas a variante curta (alelo s) e a variante longa (alelo L), foi descrita uma nova variante do 5-HTTLPR que se caracteriza por um SNP (rs25531) na 6ª repetição. Neste SNP ocorre uma troca de uma adenina por uma guanina na posição 22 (A22G) e a sua análise demonstrou que a variante A do alelo L, representada como L_A, produz altos níveis de mRNA do 5-HTT, ou seja, ocorre uma transcrição muito eficiente, enquanto a variante G do alelo L, L_G, se comporta de forma equivalente ao alelo s, mantendo equivalência expressiva ao 5-HTTLPR-s.^{12 64 69 78 83} Esta mutação cria um sítio de ligação ao fator de transcrição AP2⁷⁸, podendo essa ser a causa para a alteração de expressão.

Deste modo, quando se considera o polimorfismo 5-HTTLPR torna-se possível analisá-lo de duas formas: bialélica, considerando apenas o alelo L e o s, ou funcional, onde se inclui o SNP A22G e em que o L_G é tido em conta juntamente com o s⁸³. Segal et al. (2009)⁸³ apresentaram especificamente as diferenças de percentagens genotípicas ao realizar a análise segundo a classificação bialélica e segundo a classificação funcional – ss passou de 26,6% a 32,4%; Ls passou de 40,7% a 44,7%; LL passou de 33% a 22,5%, respetivamente.^c Segal et al. (2009)⁸³ sumarizam classificando os genótipos de acordo com 3 níveis de expressão: 1) baixa expressão (genótipo ss, sL_G e L_GL_G = s's'); 2) expressão intermédia (genótipos sL_A e L_AL_G = L's'); 3) alta expressão (genótipo L_AL_A = L'L').

^c Para informações adicionais sobre o que pode estar a ser descurado acerca do gene SLC6A4, consultar o artigo de Murphy, Maile & Vogt⁸², em que são enumeradas as várias variações deste gene, muitas delas que, regra geral, não são tidas em conta.

É ainda de referir que embora os estudos relatem que este SNP ocorre na região do alelo L, e que não existe nos cromossomas com alelo s, Kraft et al. (2005) detetaram a variante G em cromossomas com o alelo s.⁶⁴

Embora tenha sido descrita esta nova variante alélica, a grande maioria dos trabalhos que envolve o polimorfismo 5-HTTLPR analisa os desfechos considerando apenas a série bialélica, deste modo a análise do SNP em contexto multialélico e funcional tem sido até ao momento pouco estudada na associação com o comportamento suicida. Murphy et al. (2013)⁸² analisaram publicações no PubMed de 2012 que incluíssem a genotipagem do SLC6A4 e verificaram que 44% delas relatavam apenas o 5-HTTLPR na forma bialélica, negligenciando outras variações. Nomeadamente, concluíram que, na forma funcional, mais de 15% dos indivíduos que eram classificados como portadores de alelo L, por terem a variante L_G deviam de ser considerados portadores de alelo s, o que dada a proporção que constituem nas amostragens poderá influenciar os resultados. Segal et al. (2009)⁸³ mostraram que dentro dos alelos L, a frequência do L_G era substancial (15%) e no seu estudo de 188 indivíduos, 30 foram classificados de forma diferente, do modelo bialélico para o modelo funcional. Apesar disso, um estudo de De Luca et al. (2005)⁷⁸ sugere que este novo polimorfismo poderá não ter influência sobre o comportamento suicida quando se consideram pessoas com distúrbio bipolar, pois demonstraram que a frequência da variante L_G é demasiado baixa em caucasianos para produzir efeitos significativos; Segal et al. (2009)^{12 83} não encontraram diferenças significativas entre casos e controlos para nenhuma das duas classificações, e Haberstick et al. (2016)⁸¹ analisando o 5-HTTLPR em caucasianos quer na forma bialélica quer na forma funcional não obtiveram diferenças nos resultados entre as 2 classificações; este estudo sugeriu ainda que uma prioridade em estudos futuros deverá ser realizar análises abarcando tanto a forma bialélica como a funcional em diferentes etnias, dadas as diferenças étnicas que se conhecem na prevalência da depressão e das frequências alélicas de 5-HTTLPR⁸¹. Tal é confirmado por Murphy et al. (2013), que indicam que para caucasianos a percentagem de indivíduos L_G/s é de cerca de 22%, ao passo que para asiáticos é de cerca de 60%, e Zalsman et al. (2006)⁸³, que encontraram uma frequência para o L_G de 9-14% em caucasianos e de 24% em afro-americanos.

e) INTERAÇÃO COM FÁRMACOS ANTIDEPRESSIVOS

A farmacologia para a depressão mostra reduzida previsibilidade da resposta individual. Os antidepressivos são prescritos a partir de tentativa-erro, uma vez que não é possível determinar que indivíduos responderão a determinado medicamento. Dos indivíduos com depressão, entre 30 a 40% não atingem uma resposta terapêutica no primeiro uso de antidepressivos e 60 a 70% não entram em remissão (apud. Moncrieff & Kirsch, 2005)⁶³, sugerindo as pesquisas até ao momento que esta variabilidade na resposta ao tratamento antidepressivo poderá estar associada a fatores genéticos, metabólicos e ambientais (apud. Nierenberg, 2003; Horstmann & Binder, 2009)⁶³ (apud. Caspi et al., 2003; Lerer e Macciardi 2002; Malhotra et al., 2004)⁶⁴.

Assim, a farmacogenética surge com o objetivo de detetar fatores genéticos que determinam variações na resposta e/ou reações adversas para uma certa terapia e ajudar a selecionar a melhor terapia possível para um dado indivíduo com base na sua análise genética.⁶³

O mecanismo comum da atividade de todos os antidepressivos é o aumento das concentrações sinápticas de monoaminas e, uma vez que os antidepressivos mais usados, os inibidores da recaptação da serotonina (SSRI), atuam sobre o transportador da serotonina, o seu efeito é conseguido através da inibição da recaptação da serotonina no neurónio pré-sináptico, atuando sobre o transportador de serotonina e assim, até à data, a maioria dos estudos têm-se focado no 5-HTT e na importância dos seus polimorfismos na eficácia de determinados tratamentos antidepressivos, sendo a variação genética mais investigada o 5-HTTLPR.^{63 64 69 79} A maioria dos estudos mostra que indivíduos portadores do alelo *L* têm uma resposta mais rápida e melhor face aos SSRI se forem caucasianos, quando comparados com o alelo *s*.^{63 69 79} Estudos que apresentam resultados negativos a esta associação incluem populações etnicamente misturadas e, como se sabe, existem diferentes frequências alélicas em diferentes grupos étnicos.^{63 69} Num estudo duplamente cego onde foi investigada a influência do 5-HTTLPR sobre a eficácia e tolerância a SSRI, demonstrou-se que o alelo *s* está associado a uma menor resposta ao tratamento (apud. Murphy et al., 2004)⁶⁹, surgindo o mesmo resultado num outro estudo (apud. Margoob et al., 2008).⁶⁹

Já nas pesquisas em asiáticos os resultados são contraditórios, mostrando alguns deles uma maior eficácia dos SSRI em indivíduos portadores de alelo s e/ou genótipo ss⁶³ (apud. Yoshida et al., 2002; Kim et al., 2000; Kang et al., 2007)⁶⁹, enquanto outros mostram o mesmo resultado que nos caucasianos (apud Yu et al., 2002).^{66 63} Há ainda um estudo (apud. Mrazek et al., 2009)⁶³ que mostrou que indivíduos portadores do alelo s tinham uma maior incidência de reações adversas aos SSRI, o que leva a uma menor cooperação no tratamento e, portanto, pode diminuir o efeito clínico. Até à data foram realizadas 3 meta-análises sobre a eficiências dos antidepressivos relativamente ao polimorfismo 5-HTTLPR (apud. Serretti et al., 2007⁹⁰; Porcelli et al., 2012⁹¹; Taylor et al., 2010⁹²) em que duas delas encontraram um efeito positivo do 5-HTTLPR na resposta e remissão em indivíduos tratados com SSRI, embora com resultados diferentes – uma encontrou uma associação entre o genótipo ss e a taxa de remissão e ainda as variantes Ls e ss com a taxa de resposta (Serretti A. et al., 2007)⁹⁰ e outro encontrou uma associação entre o alelo L (e o genótipo LL) e a remissão, embora em asiáticos o efeito tenha sido demasiado fraco (Porcelli S. et al., 2012)⁹¹. A 3ª meta-análise não encontrou qualquer ligação (Taylor MJ. et al., 2010)⁹² mas possuía uma mistura de etnias.⁶³ Houve ainda um estudo em que compararam os indivíduos que responderam ao tratamento antidepressivo com aqueles que não responderam e encontraram evidências sugestivas para uma associação com o SNP rs25531 (A22G), com o alelo G (L_G) sendo mais provável de reduzir a resposta ao tratamento.⁶⁴

Após esta análise facilmente se compreende o quão importante é o gene transportador da serotonina e nomeadamente o seu polimorfismo de inserção/deleção, 5-HTTLPR. Contudo ainda existem algumas questões por esclarecer e outras por investigar, como o possível efeito deste polimorfismo no método (violento ou não), se possui relação com a letalidade assim como com a intenção. Além disso não nos podemos esquecer que por vezes podem ser observados resultados globais positivos em meta-análises fruto de publicações enviesadas, particularmente nos casos em que os autores podem tender a não publicar quando os resultados são negativos. Além disso, como se tem visto ao longo do trabalho, embora vários estudos suportem a associação do 5-HTTLPR com o comportamento suicida em algumas subpopulações, a genética do suicídio é muito provavelmente uma consequência de múltiplos genes e interações genéticas complexas, contudo, dado o seu potencial, este polimorfismo foi o escolhido para a realização do trabalho em questão.³⁶

OUTROS POLIMORFISMOS E GENES ASSOCIADOS AO COMPORTAMENTO SUICIDA

Já foi falado de uma forma geral, no capítulo *Genes Candidatos*, acerca de alguns genes, principalmente ligados ao sistema serotoninérgico, que se pensa estarem envolvidos no comportamento suicida e que são por isso alvo de vários estudos. Todos demonstraram possuir polimorfismos úteis para a análise da componente genética do comportamento suicida.

a) TRIPTOFANO HIDROXILASE (TPH)

O interesse pelo gene da TPH seguiu-se ao resultado de um estudo (apud. Nielsen et al., 1999)⁹ em que relataram uma associação positiva entre um polimorfismo deste gene e a presença de comportamento suicida em indivíduos alcoólicos. Mais especificamente alguns estudos encontraram ainda uma associação entre variações no gene TPH e o comportamento suicida violento em populações caucasianas.^{9 13}

Diversos estudos encontraram uma associação entre dois polimorfismos (de adenina para citosina) no intrão 7 do gene da TPH, denominados de A218C e A779C, que se encontram em desequilíbrio de ligação e, como tal, a ocorrência de uma base C na posição 218 implica em geral a ocorrência de uma base C na posição 779. Alguns estudos apontam para uma frequência do alelo com C nessas posições, significativamente maior em indivíduos com história pessoal de tentativa de suicídio e episódios de depressão major, embora uma meta-análise de 2002 (apud. Lalovic & Turecki)¹¹, onde foram analisados estudos de associação destes polimorfismos no intrão 7 e o comportamento suicida, não tenham obtido nenhuma diferença estatística significativa entre os casos e os controlos. Já num estudo de Clarissa Pujol, no âmbito de um pós-graduação em medicina, em que foi avaliada a relação entre indivíduos brasileiros caucasianos deprimidos com a tentativa de suicídio e com o polimorfismo A218C do gene da TPH, observou-se que o genótipo CC se mostrou significativamente mais frequente no grupo caso do que no controlo, sendo a probabilidade de um indivíduo do grupo caso apresentar o genótipo CC quatro vezes maior, o que demonstra de forma clara a grande controvérsia que existe.¹¹

b) RECETORES DA SEROTONINA (5-HTR)

Um polimorfismo SNP (rs6295) na região promotora do gene do recetor 5-HT_{1A}, em que há uma substituição de uma citosina para uma guanina, pode ser responsável pela alteração da expressão genética desse recetor nos humanos. Assim, diversos estudos têm tentado associar este polimorfismo (C>G) com os transtornos de humor, como a depressão major, e mesmo com o comportamento suicida, embora os resultados sejam ainda um pouco controversos.¹

Em 2003 foi sugerido por Lemonde et al. que o alelo G diminuiria a expressão do recetor 5-HT_{1A}, reduzindo assim a neurotransmissão serotoninérgica, predispondo à depressão e mesmo ao suicídio. A variação do polimorfismo no gene do recetor 5-HT_{1A} não parece estar associada às tentativas de suicídio no geral, no entanto sugere-se uma possível função do alelo G no comportamento suicida quando ocorre exposição a traumas ou eventos de vida adversos.¹

Num trabalho de mestrado de Rafael Silva (2010)¹, em pacientes deprimidos que tentaram o suicídio, e num grupo controlo sem doenças psiquiátricas, obtiveram valores que levam a crer que indivíduos com pelo menos uma cópia do alelo G do recetor 5-HT_{1A} apresentam maior suscetibilidade à tentativa de suicídio face àqueles que não apresentam o alelo G (p=0,029), o que se encontra em conformidade com alguns dos resultados apresentados na literatura.

Um SNP no exão 1, na posição 102 do gene do recetor 5-HT_{2A}, em que ocorre uma troca de uma timina para uma citosina (T102C), não resulta em alterações na sequência de aminoácidos da proteína, mas mesmo assim há uma forte associação do polimorfismo com a depressão major e com a esquizofrenia.¹

Num estudo em doentes deprimidos de Du et al. (2000), encontrou-se uma associação significativa entre o alelo C do polimorfismo e a depressão major. A frequência do alelo C foi também significativamente maior em pacientes que apresentavam ideação suicida, o que confirma a hipótese de que a variação polimórfica do 5-HT_{2A} possa ter um efeito de suscetibilidade para a depressão major e para a ideação suicida.^{1 84}

Apesar de haver já muitas evidências, os estudos com os recetores 5-HT_{2A} ainda apresentam resultados controversos. Ainda no estudo de Rafael Silva (2010) os resultados obtidos para os recetores 5-HT_{2A} não foram significativos, indicando que a

presença do alelo polimórfico C não parece oferecer suscetibilidade para a amostra de pacientes deprimidos com tentativa de suicídio que ele analisou.

c) MONOAMINA OXIDASE A (MAO-A)

Diversos polimorfismos da MAO-A (OMIM #309850) estão descritos na literatura e variações no gene têm sido continuamente associadas com ansiedade, agressão ou impulsividades aumentadas e comportamento suicida quando estão presentes condições de vida stressante¹³(apud. Schmidt et al., 2000; Tadic et al., 2003).⁴⁸

d) CATECOL-ORTO-METIL-TRANSFERASE (COMT)

Conhecem-se vários polimorfismos no gene da COMT (OMIM #116790) e de acordo com a literatura, a capacidade da enzima é, em parte determinada por um polimorfismo funcional (rs165388), decorrente da transição de uma guanina por uma adenina (G>A), que é responsável pela substituição do aminoácido valina por uma metionina, no codão 158 (Val158Met), dando origem a uma distribuição trimodal da atividade da COMT – AA (Met/Met), AG (Met/Val) e GG (Val/Val). Este polimorfismo parece gerar uma enzima com menor atividade e é um dos mais estudados em indivíduos psicóticos e esquizofrênicos.^{2 15} A homozigotia para o alelo da metionina (AA – Met/Met) leva a uma redução de três a quatro vezes da atividade catalítica quando comparada com a homozigotia para o alelo da valina (GG – Val/Val) (apud. Matsumoto et al., 2004),¹⁵ e foi também demonstrado que a heterozigotia (AG – Met/Val) determina uma enzima com atividade intermédia. Existe ainda um polimorfismo na região do locus COMT, em que um dos alelos (L) parece ser mais frequente em indivíduos com tentativa de suicídio violenta (apud. Rujescu et al., 2003).⁸⁴

Assim, no que diz respeito ao comportamento suicida, tem havido alguns estudos genéticos que têm demonstrado uma relação positiva com polimorfismos da COMT, nomeadamente no que diz respeito às tentativas de suicídio, porém também vão surgindo estudos que não encontram qualquer relação, como no caso da tese de doutoramento de Segal (2009)² na qual não foi encontrada uma associação

significativa entre a variante Val158Met do polimorfismo rs165388 e o comportamento suicida em indivíduos brasileiros deprimidos.

e) COLESTEROL

Relativamente à relação colesterol-suicídio, foi então já referido que foi encontrada uma relação entre a hipocolesterolemia e um aumento do risco de comportamento suicida e, como tal, existem expectativas relativamente ao estudo de uma mutação no gene da DHCR7.⁸⁴

f) OUTROS

Existem também estudos que se debruçam sobre o polimorfismo N251K do gene do recetor pré-sináptico α_{2A} -adrenérgico, cuja estimulação inibe a libertação de noradrenalina e, sabendo-se que nalguns estudos foram encontradas concentrações de noradrenalina no SNC de vítimas de suicídio até 73% mais baixa, torna-se evidente o interesse no gene do recetor. Num estudo, no âmbito de uma tese de Luciane Lima, obtiveram-se resultados consistentes com a ideia de que este polimorfismo não está relacionado com a tentativa de suicídio.¹⁰

RASTREIOS GENÓMICOS (GWAS e GEWIS)

Como a abordagem a genes candidatos revela muitas vezes resultados conflituosos e graças à melhoria que tem havido das técnicas, opta-se então por vezes pelos GWAS. A partir do conhecimento dos sistemas de transmissão sináptica que estão envolvidos numa dada doença, são identificados genes candidatos, contudo podem fazer-se estudos mais gerais, como é o caso dos estudos de associação no genoma completo (GWAS, do inglês *genome-wide association study*),^{2 10 11 13 16 41} cuja abordagem permite uma análise de um milhão, ou mais, de polimorfismos dentro de todo o genoma e cujo objetivo é melhorar os diagnósticos, a prevenção e o tratamento através de uma compreensão diferenciada dos fundamentos genéticos da doença.⁴⁷ No entanto, os resultados a partir destes estudos têm provado ser dececionantes em termos de identificação com confiança de genes candidatos,

tanto para a depressão major como para o comportamento suicida;^{11 13 16 41 48} além disso, como os efeitos de variações comuns são tipicamente moderados, normalmente nestes estudos são necessárias amostras na ordem dos 10.000 indivíduos de modo a que se tenha poder suficiente na deteção de tais efeitos, e já se demonstraram variações que não foram detetadas em GWAS e que desempenham papéis importantes no autismo, esquizofrenia e doença bipolar, mas até à data em relação à depressão tal não tem sido explorado.⁴⁷ Há alguns fatores que se supõe que possam contribuir para os resultados decepcionantes e discordantes, como o facto das amostras serem em geral pequenas (face a isso uma boa estratégia é a realização de meta-análises, em que se une numa mesma amostra indivíduos de diferentes estudos, assumindo que as respetivas amostras são homogéneas entre si), o comportamento suicida não ser um fenótipo determinado apenas geneticamente mas sim o resultado de uma complexa interação entre a genética e o ambiente, e ainda o facto de poderem existir enviesamentos relacionados com estratificações étnicas.¹¹ Um outro obstáculo na identificação de *loci* de suscetibilidade para a depressão tem a ver com a questão desta ser um fenótipo heterogéneo; de facto, a partir do critério de diagnóstico da DSM-V para episódio depressivo major é possível obter pelo menos 227 combinações diferentes de sintomas (apud. Galatzer-Levy & Bryant, 2013) e tais subtipos de depressão poderão refletir diferentes combinações genéticas.⁴⁷

Em alternativa a estudos que se focam em genes candidatos e em polimorfismos específicos, uma equipa espanhola do Hospital MontSinai e a Universidade de Columbia (EUA), com o objetivo de identificar um modelo capaz de diferenciar pessoas com e sem antecedentes de tentativas de suicídio, examinou 840 SNPs funcionais presentes em 312 genes expressos no cérebro. Os SNP foram analisados em homens com diagnóstico de doença psiquiátrica e a equipa conseguiu classificar 69% dos indivíduos corretamente utilizando um algoritmo baseado em três SNPs de 3 genes diferentes – 5-HT_{1E} (SNP rs10944288), GABRP (SNP hCV8953491) e o ACTN2 (SNP rs707216) que, como já referido anteriormente, são responsáveis pela codificação para a secreção de hormonas relacionadas com o humor e com o comportamento.⁸

Eric Dunn et al. (2015)⁴⁷ acreditam que os GWAS podem ser limitados, na medida em que não tomam em conta como as influências genéticas podem variar entre indivíduos com diferentes exposições ambientais. Está bem estabelecido que os fatores ambientais, como a exposição a adversidades, são fatores de risco importantes no que diz respeito à depressão, por exemplo, mas, ainda pouco se sabe sobre se esses fatores ambientais são modulados

pela variação genética e, em caso afirmativo, que variações genéticas serão relevantes. Assim, de modo a preencher essa lacuna, surge uma outra abordagem, os estudos de interação entre o genoma e o ambiente (GEWIS) ⁴⁷, sendo que, até ao momento foram já realizados, do que temos conhecimento, dois estudos piloto nesse sentido. Um deles teve como objetivo identificar genes que pudessem influenciar a associação entre os eventos de vida stressantes e a depressão, numa população japonesa, ao que os achados sugeriram que o polimorfismo rs10510057, interagindo com eventos stressantes, poderá estar envolvido no risco para a depressão ⁷⁴; outro, foi realizado numa amostra de mulheres afro-americanas e hispânico-latinas, também analisando os eventos stressantes e a depressão, no qual foi encontrado um sinal de interação significativo entre o SNP rs4652467 e os eventos stressantes em mulheres afro-americanas, embora essa mesma interação não tenha sido depois observada ao fazer-se uma replicação numa coorte mais pequena, evidenciando problemas metodológicos como seja a disparidade de definições e medidas de depressão e dos eventos stressantes.⁷⁵

OBJETIVOS

Gerais:

- Comparar a frequência de um polimorfismo (5-HTTLPR) entre indivíduos que já tentaram o suicídio e indivíduos que nunca tentaram.
- Comparar a frequência de um polimorfismo (5-HTTLPR) entre indivíduos com ideação suicida e indivíduos sem ideação suicida.

Específicos:

- Verificar se o comportamento suicida tem alguma associação com o sexo, a idade, as patologias psiquiátricas, as adversidades na infância, a história familiar de tentativa de suicídio, o estado civil, a presença ou não de filhos, a escolaridade e a situação laboral.
- Calcular a frequência dos alelos L e s do polimorfismo descrito, em casos e em controlos.
- Verificar se o polimorfismo descrito tem alguma associação com o comportamento suicida e ainda se tem associação com o diagnóstico de patologia psiquiátrica, com as adversidades na infância, com a história familiar de tentativa de suicídio e com a situação laboral, comparando casos com controlos.
- Verificar se há associação entre o polimorfismo descrito e a letalidade e a violência da tentativa de suicídio.
- Verificar se existem diferenças estatísticas ao estudar o polimorfismo segundo a classificação funcional ou segundo a classificação bialélica.

MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi realizado com aprovação da Comissão Nacional de Proteção de Dados (CNPd), processo nº 1861/2016, sob a autorização nº 5091/2016 (anexo 5) e ainda da Direção Clínica Hospitalar e Comissão de Ética da ULSBA, conforme parecer da Ata nº 4 ponto 3 da Comissão de Ética, de 20-06-2016, e todos os voluntários assinaram o termo de Consentimento Informado elaborado para este trabalho (anexo 1).

PROTOCOLO DE OBTENÇÃO DE MATERIAL BIOLÓGICO HUMANO E DE QUESTIONÁRIOS

a) CASUÍSTICA, CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

- Fizeram parte do presente estudo 87 indivíduos (51 controlos + 36 casos)^d, utentes e alguns trabalhadores do Departamento de Psiquiatria e Saúde Mental do Hospital de Beja
- A obtenção das amostras realizou-se entre 12 julho e 25 agosto de 2016
- Foram incluídos na amostra indivíduos com idade igual ou superior a 18 anos, residentes da zona do Baixo Alentejo e caucasianos, sendo excluídos aqueles que não possuíam capacidade para entender ou discernir o que lhes era proposto e ainda aqueles cujo estado psiquiátrico dificultava o contacto e a realização dos questionários e colheita de saliva. Esta capacidade do utente para fazer ou não parte do estudo era avaliada pela médica psiquiátrica que o acompanhava em consulta.
- O grupo caso foi formado *a priori* por utentes do Hospital de Beja que tivessem feito pelo menos uma tentativa de suicídio. Alguns destes utentes participaram no estudo após consulta de psiquiatria no departamento, enquanto outros foram

^d Dado o pequeno tamanho da amostra, alguns dos resultados posteriormente apresentados serão colocados em destaque, mesmo não sendo significativos, caso se encontrem próximos de $p=0,05$

selecionados por terem tido contacto com as urgências do hospital, no âmbito de uma tentativa de suicídio (foi usada uma lista de janeiro 2016 a junho 2016) e posteriormente contactados telefonicamente, sendo convidados a ir ao departamento para participar no estudo.

- Para formar um grupo controlo (sem registo de comportamento suicida) convidaram-se utentes com seguimento em consulta de psiquiatria, e ainda alguns trabalhadores do serviço, estes últimos sem registo de doença psiquiátrica.

- Procurou evitar-se qualquer enviesamento da amostra, mas houve casos de recusa em participar neste estudo. É de destacar o facto do tema em questão ser de carácter sensível, o que acaba por ter impacto sobre o recrutamento de participantes. Das pessoas que se encontravam em consulta e que foram convidadas a participar, estima-se que cerca de 10% recusou, enquanto para as que foram contactadas telefonicamente é mais difícil dizer quantas recusaram.

b) OBTENÇÃO DO MATERIAL BIOLÓGICO E APLICAÇÃO DOS QUESTIONÁRIOS

- Aos utentes que compareceram à consulta de psiquiatria foi-lhes, no final da consulta, falado sobre o estudo, por parte da psiquiatra. Após esta apresentação do estudo os utentes que aceitassem fazer parte do estudo eram encaminhados para uma outra sala.

- Os utentes que foram contactados por telefone foram previamente avisados acerca do carácter de tal telefonema e da não obrigatoriedade de presença, visto a participação no estudo ser voluntária, indo então apenas ao departamento no dia que lhes era pedido os utentes que aceitavam participar no estudo.

- No primeiro contacto entre mim e o voluntário era feita uma nova explicação do estudo, desta vez mais detalhada e em que lhe era mostrado os dois questionários a preencher e se explicava como seria feita a colheita de saliva.

- Feita a explicação era entregue ao participante o consentimento informado, o qual ele lia, ou lhe era lido, e assinava, ficando depois com um duplicado (anexo 1).

- Estando o consentimento informado assinado era então preenchido um questionário, realizado para este mesmo propósito, e que diferia um pouco entre o grupo caso e grupo controlo (anexo 2 e 3, respetivamente)^e.
- De seguida era preenchido o Questionário de Ideação Suicida (QIS) (anexo 4), escolhido para este estudo por ter sido adaptado para a população portuguesa (1999), apresentar características psicométricas satisfatórias e uma rápida e fácil aplicação e ainda por ser considerado um dos instrumentos de “autoadministração” mais utilizados na prática clínica para a deteção e medição de ideação suicida.
- Consoante as capacidades e vontade do utente, o preenchimento dos diferentes questionários era feito autonomamente ou com a minha ajuda.
- Depois dos questionários preenchidos era então solicitado ao voluntário que cedesse uma amostra de saliva, que já tinha sido previamente explicado em que consistia. Para tal foram usadas zaragatoas (*FLmedical*) e tubos de 50mL (4440110, *Orange Scientific*). A zaragatoa era passada algumas vezes no interior de cada lado da bochecha, sendo depois pedido à pessoa para cuspir para o tubo uma pequena quantidade de saliva. Posto isto, a zaragatoa era colocada dentro do tubo, o mesmo era bem fechado e identificado, com o mesmo código dado aos questionários, sendo guardado no congelador do Departamento de Psiquiatria, até ser realizado o transporte para o laboratório.
- Após cada semana de recolha os tubos contendo as amostras eram levadas para o laboratório da Associação, no qual permaneciam armazenados a -20°C.

^e Para a pergunta 10 dos questionários, “Possui história de adversidade na infância?”, foram consideradas adversidades na infância os seguintes acontecimentos: abuso emocional, físico e sexual; negligência física e emocional; familiares consumidores de álcool e/ou drogas; divórcio dos pais; violência doméstica entre os pais; morte de um dos pais.

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

a) EXTRAÇÃO DE DNA

- A extração de DNA, contido nas zaragatoas, foi realizada com o Kit GRS Genomic DNA Kit – BroadRange - #GK06.0100, fornecido pela empresa Grisp, seguindo-se o protocolo do fornecedor para zaragatoas bucais.
- Aquando da extração do DNA foram dados novos códigos a cada amostra, consoante o dia da sua extração, sendo estes códigos correlacionados com os previamente dados às amostras e respetivos questionários, sempre de modo a manter a confidencialidade.
- Tendo em conta o Kit utilizado, a extração de DNA foi feita segundo os seguintes passos:
 - Digestão com proteinase K (60°C)
 - Lise com cloreto de guanidina (BR2) (60°C)
 - Precipitação com etanol
 - Ligação à coluna
 - Lavagem 1
 - Lavagem 2
 - Eluição
- Antes de ser feita a extração das amostras recolhidas no Departamento de Psiquiatria foi feita extração de DNA de zaragatoas colhidas a mim e ao meu coorientador, de modo a testar e praticar a execução do Kit em questão.
- Escolheram-se duas amostras para verificar a concentração e pureza do DNA obtido por espectrofotometria. Após correção para a absorvância a 320 nm (turbidez não específica), obtiveram-se valores cerca dos 50 ng/μL, e razão A_{260}/A_{280} igual a 1,86.

b) VERIFICAÇÃO DA EXTRAÇÃO

- Foi realizada uma eletroforese em minigel de agarose 1,5% em TBE 0,5x a amostras de 20µL de alguns dos extratos, selecionados aleatoriamente, para confirmar a presença de DNA de elevado peso molecular.

c) PREPARAÇÃO DA PCR

- A amplificação dos fragmentos de DNA a estudar foi obtida através da técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) – previamente descrita na Revisão Bibliográfica.
- Foi genotipado o polimorfismo 5-HTTLPR, constituído por uma deleção de 44pb, localizado a montante da região transcrita do gene 5-HTT.
- Para a PCR foram utilizados os *primers forward* (5'-TGA ATG CCA GCA CCT AAC CC-3') e *reverse* (5'-TTC TGG TGC CAC CTA GAC GC-3'), dando origem a um fragmento previsto de 450 bp (figura A1).
- Foi utilizado o Kit Bk1005 (KAPA Taq PCR kit with Dye (+dNTPs)) da KAPA Biosystems (Boston, MA)
- A preparação das mixes (de primers e de enzima), assim como a sua junção com o DNA, foi realizada utilizando pontas de pipetas com filtro numa workstation UV3 HEPA (UVP Upland CA), descontaminada por radiação ultravioleta e com filtro HEPA.

d) AMPLIFICAÇÃO POR PCR

- As condições de amplificação foram ajustadas tendo em conta as informações disponíveis para a região alvo ^{2 5 12 14 15}, nomeadamente a elevada percentagem de pares GC, e experiências de aperfeiçoamento que levaram à definição de uma temperatura ideal de hibridação e a inclusão dos aditivos betaína e DMSO (tabela A2 e figura A3).
- A cada poço da placa de PCR juntou-se: mix de enzima, extrato de DNA e mix de primers, na proporção 18/25, 1/25 e 6/25, respetivamente. As condições da

amplificação incluíam assim: Tampão (de enzima) 1x, dNTPs a 4x0,2 Mm, Taq polimerase 0,025 U/μL, DMSO 1%, betaína 1 M, extrato (aproximadamente 1 ng DNA) e os dois primers (0,5 μM cada).

- A amplificação foi realizada num termociclador Uno (VWR) sob as seguintes condições:

- $T_{\text{desnaturação inicial}} = 95^{\circ}\text{C}$, 5min

- 30 ciclos:

- $T_{\text{desnaturação}} = 95^{\circ}\text{C}$, 30seg

- $T_{\text{hibridação}} = 62^{\circ}\text{C}$, 1min

- $T_{\text{extensão}} = 72^{\circ}\text{C}$, 40seg

- $T_{\text{extensão final}} = 72^{\circ}\text{C}$, 5min

- É incluído ainda no apêndice (protocolo A4) um exemplo dos volumes pipetados nas PCRs, para 24 amostras.

e) VERIFICAÇÃO COM ELETROFORESE

- Após a PCR foi realizada uma eletroforese de verificação de amplificação, em minigel de agarose 1,5% em TBE 0,5x.

- Antes das pipetagens nos poços, foi adicionado às amostras e ao marcador de peso molecular, *mass ruler Forward* (Fermentas), o fluorescente GelRed (Biotium) a 55x para visualização com ultravioleta. Alternativamente poderia optar-se por um banho em GelRed após a eletroforese (coloração *post-staining*) mas deixou de utilizar-se este método por se revelar pouco eficaz.

f) REPETIÇÃO DE PCR E NOVA VERIFICAÇÃO

- Considerando que as amostras com sinal fraco poderiam ter eventualmente pouco DNA, decidiu aumentar-se a quantidade de extrato de DNA na PCR. Assim, para

algumas amostras utilizou-se 2 µL de DNA em vez de 1 µL, e mesmo 5 µL nos casos em que o sinal continuava a ser fraco, sendo os resultados apresentados no capítulo dos *Resultados*. O risco eventual de aumentar impurezas que possam inibir a catálise acabou por não verificar-se, como seria esperado tendo em conta o protocolo de extração utilizado.

Em apenas 3 amostras só se conseguiu material suficiente após reamplificação, isto é, utilizando 1 µL da solução de PCR realizada com 2 µL de extrato.

g) REAÇÃO DE RESTRIÇÃO (ENZIMA *MspI*)

- Os produtos da PCR foram incubados a 37°C por 2h com a enzima *MspI*^f, utilizando 1 volume de mix de enzima para 1 volume de DNA, de modo a potenciar uma mais fácil distinção entre o fragmento L, longo e o s, curto [é incluído no apêndice (protocolo A5) um exemplo dos volumes pipetados para 30 amostras]
- Não se efetuou inativação da enzima pelo calor, sendo o produto da restrição diretamente aplicado na análise por eletroforese.

h) ELETROFORESE APÓS RESTRIÇÃO COM ENZIMA

- Após reação de restrição os fragmentos foram centrifugados por 30 segundos e foi-lhes adicionado 2 µL GelRed 110x, assim como ao marcador de peso molecular.
- A eletroforese realizada para observação dos resultados da restrição com enzima foi feita num gel de agarose 2% em TBE 1x, de 25 cm de largura por 26 cm de comprimento, na tina de eletroforese da marca CBS scientific company inc (modelo SGU-2626T-02) cuja distância entre elétrodos é de 43 cm e em que é recomendada a utilização de 2,6 L de tampão sob as seguintes condições:

- 130 V (voltagem constante)
- até 500mA (+-128)

^f A enzima *MspI* corta em C'CGG

- até 250W (+-18)
- com fonte Bio Rad Power Pac 1000
- 52V/cm de gel
- 534V/h
- 4h

- O gel foi visualizado num transiluminar de UV (312nm) GenoPlex (VWR) controlado através do programa *GenoCapture* (VWR), sendo a imagem guardada para subsequente análise; o tamanho dos fragmentos obtidos foi estimado através de comparação com o marcador de peso molecular *Mass Ruler Express LR Reverse DNA Ladder* (Fermentas, #SM1273) através do programa *GenoSoft* (VWR). O resultado da eletroforese é apresentado o capítulo Resultados.

i) SEQUENCIACÃO E ANÁLISE BIOINFORMÁTICA

Escolheram-se os dois indivíduos com genótipos LL* (6E e 9G), porque neles seria possível demonstrar a existência dum polimorfismo pela presença dum sítio nucleotídico que criasse uma sequência de reconhecimento pela enzima *MspI*. Cada uma das amostras foi amplificada segundo o protocolo usual, exceto que o volume total da solução era 50 µL e foram utilizados 4 µL de DNA de cada.

No final da amplificação, foram adicionados 150 µL de TE, e misturado, seguindo-se extração com clorofórmio e álcool isoamílico 24:1, e precipitação com etanol pelo método de Fregel et al. (2010)⁹⁴ usando poliacrilamida linear (LPA) como *carrier* (descrição ao pormenor no protocolo A6).

O DNA purificado foi enviado para um serviço de sequenciação pelo método de Sanger. As sequências foram analisadas usando o software Sequence Scanner (Applied Biosystems, Foster City, CA). Apenas se obteve uma sequência de qualidade (9G + 5HTTr), que apesar disso foi suficiente para localizar o polimorfismo que se procurava. A sequência foi alinhada com a de referência para o genoma humano (UCSC Genome Browser, h38 Assembly, ver Figura 15) usando o software UGene (Okonechnikov et al. 2012)⁹⁵.

RESULTADOS

ANÁLISE PRÉVIA DA POPULAÇÃO

A nossa amostra é constituída por 87 indivíduos, dos quais 53 do sexo feminino.

Para o presente estudo foram concebidos dois questionários no sentido de caracterizar dados biográficos, demográficos, sociológicos e clínicos (anexo 2 e 3), diferenciados segundo se tratava de indivíduos que tentaram o suicídio ou não: no primeiro, incluíam-se questões sobre as próprias tentativas; no segundo, incluía-se uma pergunta sobre a ideação suicida. Sendo ainda aplicado a ambos os grupos o Questionário de Ideação Suicida (QIS) (Reynolds, 1988), descrito previamente no capítulo da revisão bibliográfica.

No conjunto da amostra, 36 (41%) já tentaram suicidar-se pelo menos uma vez (“casos”); dos restantes 51 (“controlos”), verificou-se a existência dum número substancial de indivíduos com ideação suicida (17), isto é, que responderam SIM à pergunta “Alguma vez pensou suicidar-se?” incluída no respetivo questionário, tendo-se por isso decidido subdividir a amostra em três grupos (figura 5):

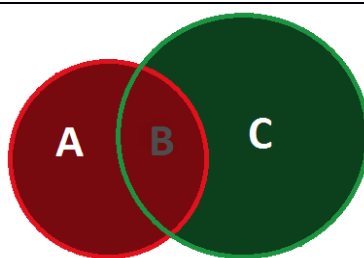


Figura 5 - Subdivisão da amostra por 3 grupos: A – indivíduos que tentaram o suicídio pelo menos uma vez; B – indivíduos com ideação suicida sem terem tentado o suicídio (ainda); C – sem ideação suicida.

Tabela 5 - Distribuição dos indivíduos analisados pelos três grupos A, B e C, discriminando por sexo.

| | A | B | C | | |
|--------------------------|----------|----------|----------|-----|-----------|
| Tentaram suicídio | ✓ | × | × | | |
| Ideação suicida | ✓ | ✓ | × | % A | % (A + B) |
| Feminino (53) | 23 | 12 | 18 | 43% | 66% |
| Masculino (34) | 13 | 5 | 16 | 38% | 53% |
| % Feminino | 64% | 71% | 53% | | |

Tendo em conta esta subdivisão, decidiram adotar-se dois critérios para comparação da população:

- Critério ato no qual será feita a comparação de A (casos) com B+C (controles);
- Critério ideação, em que se comparará A+B (casos) com C (controles).

No apêndice (tabela A7 a A16) apresentam-se as distribuições pelos três grupos (A, B, C) segundo as diversas variáveis não genóticas estudadas.

I PARTE: ANÁLISE ESTATÍSTICA DA AMOSTRA

Nota: como referido em Materiais e Métodos, o reduzido tamanho da amostra nem sempre permitia o necessário poder estatístico para validar os efeitos de diversos fatores. Por isso, sempre que o valor do erro tipo I seja suficientemente próximo de 0,05, dá-se o destaque correspondente, como sugestivo dum efeito real.

Para toda a análise estatística considerou-se o valor de $P < 0,05$ para rejeitar a hipótese nula, utilizando a seguinte nomenclatura para identificar os níveis de confiança:

| | |
|---------------------------------|-----------|
| $P \geq 0,05$ | ns |
| $P < 0,05$ | * |
| $P < 0,01$ | ** |
| $P < 0,001$ | *** |

a) SEXO

As tentativas de suicídio exclusivamente (grupo A vs. B+C), ou em conjunto com a ideação suicida (grupo A+B vs. C), parecem ser independentes do sexo ($\chi^2=0,06$, $P=0,80$ e $\chi^2=0,99$, $P=0,32$, respetivamente), embora quando se inclui a ideação suicida se note que há uma clara maioria de mulheres nesse grupo (tabelas A17 e A18).

b) IDADE

Quanto à idade dos indivíduos, quando comparadas entre sexos, estamos perante a mesma distribuição de idades ($t_{85}=1,22$ ns), sendo a média nas mulheres de 52 anos e 49 nos homens.

c) DISTRIBUIÇÃO DO SCORE DE QIS NAS SUBPOPULAÇÕES A, B e C

A distribuição dos scores da amostra foi globalmente bimodal, percebendo-se que entre as subpopulações A, B e C se obtinham distribuições altamente diferenciadas (figura 6).

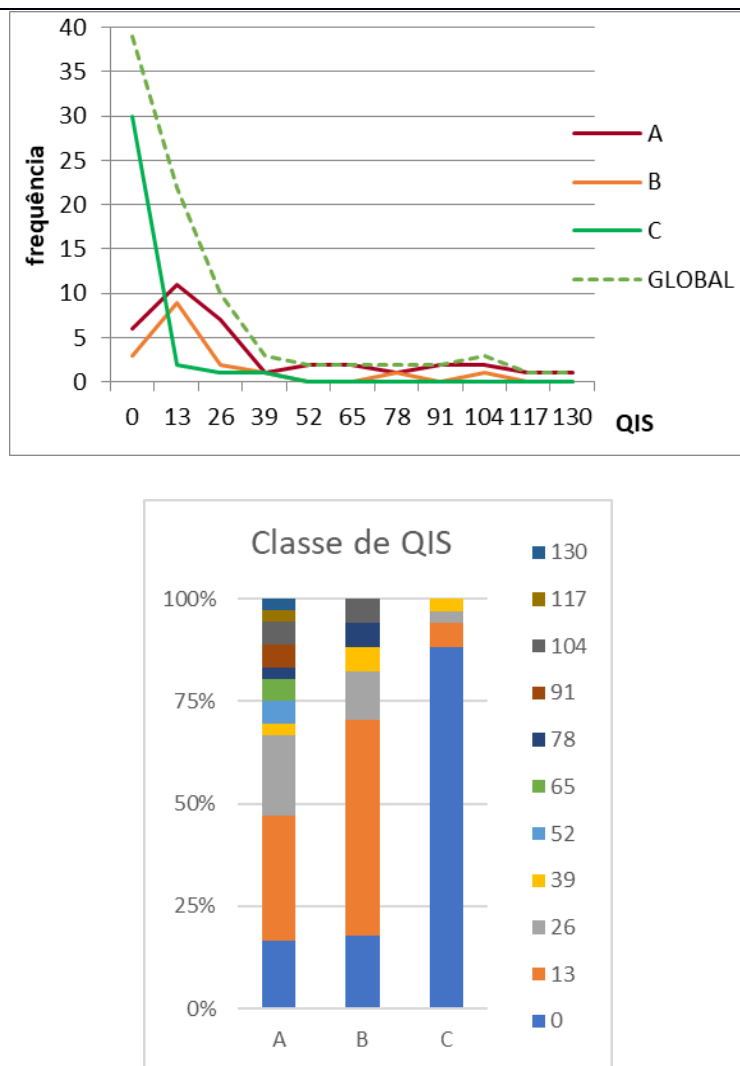


Figura 6 – Gráficos representativos das distribuições do score de QIS, por classes. a) Histograma para cada uma das subpopulações (A, B e C), incluindo para amostra global. b) Comparação entre as subpopulações (A, B e C)

Dados os resultados obtidos decidiu testar-se se existiria heterogeneidade entre as subpopulações, realizando-se assim um teste U de Mann-Whitney (figuras A19 e A20). Assim, demonstra-se que, tendo em conta o QIS, os casos são significativamente diferentes dos controlos, para qualquer um dos critérios ($P < 1 \times 10^{-4}$, $U = 1496,5$, $z = 4,99$ A vs. B+C e $P < 1 \times 10^{-4}$, $U = 1630,5$, $z = 6,35$ A+B vs. C).

d) TRANSFORMAÇÃO DO QIS

Devido à sua distribuição muito assimétrica e para viabilizar a realização de testes estatísticos paramétricos, utilizou-se uma transformação dos scores, $TQIS = \ln[\sqrt{(QIS + 0,5)}]$, onde QIS é cada score e \ln é o logaritmo neperiano (\log_e); deste modo obtiveram-se distribuições aproximadamente normais nas subpopulações A e B (teste de normalidade de Shapiro-Wilk: $W=0,97$, $P=0,38$ e $W=0,95$, $P=0,39$, respetivamente) mas não C ($W=0,8547^{***}$), nestes últimos presumivelmente devido à sobreabundância de indivíduos com QIS igual a zero (9/16 homens com score de QIS de 0, enquanto 3/18 nas mulheres (Fisher's exact test, unicaudal, $P=0,019$)).

Esta constatação, a par de inferir-se uma relativa homogeneidade entre A e B ($t_{51}=1,71$ ns), em contraste com a comparação entre B e C ($t_{49}=6,33^{***}$), dá um suporte adicional à validade de considerar o critério ideação nas comparações a efetuar.

e) DIFERENÇAS NO VALOR DE TQIS ENTRE SEXOS

Comparando entre sexos, o valor médio de TQIS tende sempre a ser mais elevado no sexo feminino, sendo essa diferença significativa apenas nos controlos quer com o critério ato (grupo B+C, $t_{49}=3,23^{**}$) quer com o critério ideação (grupo C, $t_{32}=3,16^{**}$), mas não nos casos (respetivamente grupo A, $t_{34}=1,60$, $P=0,16$ e grupo A+B, $t_{51}=1,44$, $P=0,16$). Contudo, há que ter em atenção a proporção entre sexos com score de QIS igual a zero, que no sexo feminino é apenas de 17%, ao passo que no masculino é de 56%, o que nos leva a pôr a hipótese de um enviesamento, devido a possíveis respostas pretensamente negativas ao QIS, sobretudo no sexo masculino. Isto põe em causa todas as comparações feitas entre sexos, dentro do grupo controlo, quando é considerado o TQIS. Esta pode também ser a causa para a não normalidade da distribuição no grupo C, acima referida.

Decidiu averiguar-se se a distribuição de TQIS, no grupo C, era normal ao considerarem-se apenas os indivíduos do sexo feminino, confirmando-se essa suposição através de um teste de Shapiro-Wilk ($W=0,90$ e $P=0,07$), que nos demonstra então que a não normalidade exibida no grupo C, no global, se deve à grande proporção de indivíduos do sexo masculino com score de QIS de 0.

Ainda, ao comparar-se, no grupo controlo, as diferentes escolaridades entre sexos, tendo em conta os seus scores de QIS, o valor médio de TQIS em cada escolaridade surge sempre superior no sexo feminino (figura 7), mas significativo apenas tendo em conta o critério ato (grupo B+C) nos indivíduos com escolaridade mais baixa (sem escolaridade-6º ano) ($t_{19}=2,95^{**}$), que nos sugere deste modo que os indivíduos do sexo masculino com escolaridade abaixo do 7º ano foram os responsáveis pelo tal enviesamento de que se suspeitava. Segundo o critério ideação (grupo C), a perda de significância deve-se sobretudo à perda de dimensão da amostra. Apesar de no grupo controlo, para qualquer um dos critérios, a média de TQIS ser bastante superior nas mulheres que nos homens, só é significativamente mais elevada nas mulheres abaixo do 7º ano, critério ato (destacado).

| | | TQIS | | | |
|----------------------------------|----------|---------|--------------|-----------------|-------------------------------------|
| Critério ato | | <7º ano | 7º - 12º ano | Ensino superior | Comentários |
| Casos (A) | Mulheres | 1,88 | 1,78 | 1,55 | |
| | Homens | 1,55 | 1,58 | 1,74 | 7º-12º: n=3 Ensino superior: n=2 |
| Controlos (B+C) | Mulheres | 1,21 | 1,23 | 0,95 | |
| | Homens | 0,28 | 0,57 | 0,73 | Ensino superior: n=3 |

| | | TQIS | | | |
|--------------------------------|----------|---------|--------------|-----------------|----------------------|
| Critério ideação | | <7º ano | 7º - 12º ano | Ensino superior | Comentários |
| Casos (A+B) | Mulheres | 1,74 | 1,71 | 1,52 | |
| | Homens | 1,54 | 1,57 | 1,64 | Ensino superior: n=3 |
| Controlos (C) | Mulheres | 0,89 | 0,77 | 0,89 | 7º-12º: n=3 |
| | Homens | 0,09 | 0,21 | 0,36 | Ensino superior: n=2 |

Figura 7 - Tabelas representativas dos valores médios de TQIS, por grau de escolaridade (<7º ano, 7º-12º ano ou ensino superior) comparando caso e controlo, subdividindo ainda por sexo. Em cima considerando o critério ato, em baixo considerando o critério ideação. Destacam-se de comentários as componentes da amostra com um reduzido número (n) de indivíduos.

f) PATOLOGIAS PSIQUIÁTRICAS

Nota: São apresentadas em apêndice duas tabelas, uma relativa à presença ou ausência de patologia psiquiátrica entre sexos (tabela A21) e outra relativa à toma ou não de medicação para problemas psiquiátricos entre sexos (tabela A22).

Foi observada uma associação dos casos com a presença de patologia psiquiátrica ($\chi^2=13,10^{***}$ critério ato, e $\chi^2=20,11^{***}$ critério ideação), com a presença de depressão (vs. grupo com outras patologias psiquiátricas ou ausência de patologias, ($\chi^2=5,31^*$ e $\chi^2=11,44^{***}$, respetivamente; vs. ausência de patologias $\chi^2=12,15^{***}$ e $\chi^2=19,74^{***}$, respetivamente), e ainda com a presença de outras patologias psiquiátricas não depressivas (vs. ausência de patologias $\chi^2=8,26^{**}$ e $\chi^2=8,01^{**}$, respetivamente).⁹ Pelo contrário, entre a depressão e outras patologias psiquiátricas não se verificou nenhuma associação preferencial ($\chi^2=0,02$ ns critério ato e $\chi^2=0,40$ ns critério ideação).

Assim, possuir patologia psiquiátrica parece influenciar o comportamento suicida, e até mesmo apenas o pensamento suicida, mas esta influência é independente do tipo de patologia psiquiátrica.

Os valores médios de TQIS serviram para comparar, dentro de cada grupo clínico, casos com controlos; considerando o critério ato, a presença de depressão deu um valor significativamente superior nos casos (grupo A, $t_{42}=4,04^{***}$), assim como nas outras patologias psiquiátricas (não depressivas) ($t_{17}=2,30^*$); já com ausência de patologia não existe diferença significativa ($t_{22}=1,49$ ns).

Considerando o critério ideação, em todos os grupos demonstra-se uma média significativamente mais elevada nos casos (grupo A+B, $t_{42}=4,38^{***}$, $t_{17}=4,19^{***}$ e $t_{22}=3,41^{**}$, respetivamente). Este resultado mostra a relevância da pontuação associada à pergunta 2 do QIS ("Pensei em suicidar-me"), pois no critério ato consideram-se controlo os indivíduos do grupo B, junto com os do grupo C cuja pontuação nesta pergunta é 0, enquanto no critério ideação são considerados caso junto com o grupo A; o que nos demonstra que a ideação suicida aumenta por si só o score do QIS,

⁹ Neste teste, todos os indivíduos com depressão e outras patologias psiquiátricas integravam o grupo da depressão.

independentemente de haver ou não patologia psiquiátrica os resultados são muito mais consistentes e fazem mais sentido.

Todos os testes foram também realizados sendo removido o score na pergunta 2 do QIS, para averiguar se este score em si mesmo influenciava os resultados, e conclui-se que não (tabelas A23 a A25).

Esta última conclusão é corroborada pela comparação unicamente entre os grupos B e C (isto é, nos que não tentaram o suicídio), em que a ideação suicida (grupo B) tem um padrão de associação semelhante aos casos (acima evidenciado), isto é, com a presença quer de patologia psiquiátrica ($\chi^2=5,29^*$) ou de depressão (vs. outras patologias psiquiátricas ou ausência de patologia, $\chi^2=5,44^*$, e vs. ausência de patologia, $\chi^2=6,31^*$) — mas não de outras patologias psiquiátricas (vs. ausência de patologia, $\chi^2=0,58$ ns); analogamente, é independente entre depressão e outras patologias psiquiátricas ($\chi^2=0,46$ ns).

Para todos os efeitos, a subpopulação B é semelhante à subpopulação A, exceto que nunca tentaram suicidar-se, sugerindo que a distinção mais relevante é segundo o critério ideação. Contudo, mantém-se neste estudo a prática de seguir os dois critérios.

Comparando os valores médios de TQIS para a presença de patologia psiquiátrica, a mesma corresponde a valores significativamente mais elevados no grupo A ($t_{34}=2,23^*$) e no grupo B+C ($t_{48}=2,84^{**}$) mas não em A+B ($t_{53}=1,69$, $P=0,10$), em C ($t_{32}=1,68$, $P=0,10$), nem em B ($t_{15}=1,22$, $P=0,24$).

Já a presença de depressão (vs. grupo formado por outras patologias ou ausência de patologia), implica um valor médio de TQIS significativamente mais elevado, tanto no critério ato ($t_{34}=3,27^{**}$, grupo A e $t_{49}=2,98^{**}$, grupo B+C,) como no critério ideação ($t_{50}=2,30^*$, grupo A+B e $t_{32}=2,19^*$, grupo C), mas não quando se tem em consideração apenas o grupo B ($t_{15}=0,84$, $P=0,41$).

g) ADVERSIDADES NA INFÂNCIA

Nota: É apresentada em apêndice uma tabela, relativa à presença ou não de adversidades na infância para cada sexo, observando-se uma maior percentagem de mulheres com adversidades (53%) do que homens (38%) (tabela A26).

A existência de adversidades na infância tende globalmente a estar associada com os casos, embora não significativamente (grupo A $\chi^2=2,38$ ns e grupo A+B $\chi^2=2,40$ ns), o mesmo se observando em cada sexo separadamente; porém, no sexo feminino, nota-se um contraste quase significativo entre o grupo A, onde 70% teve pelo menos uma adversidade na infância, e o grupo B+C, com 40% ($\chi^2=3,46$ ns, $P=0,06$). Além disso, observa-se ainda que, considerando apenas o grupo caso do critério ato, as mulheres têm uma maior tendência para possuir adversidades na infância comparativamente aos homens (70% vs. 38%, respetivamente) (grupo A $\chi^2=2,15$, $P=0,14$), mas não quando se considera o critério ideação (grupo A+B $\chi^2=0,61$ ns). Além disso, comparando, no global, o grupo A com o grupo B, relativamente à presença ou ausência de adversidades, não se observam diferenças significativas ($\chi^2=0,22$ ns)

h) TQIS E AS ADVERSIDADES NA INFÂNCIA

Em relação ao TQIS e tendo em conta a amostra no seu todo, este é significativamente mais elevado quando existem adversidades na infância ($t_{85}=3,57^{***}$), acontecendo o mesmo no conjunto das mulheres ($t_{51}=3,14^{**}$) mas não nos homens, embora nestes se observe uma tendência no mesmo sentido ($t_{36}=1,77$ $P=0,08$).

Nos controlos com pelo menos uma adversidade na infância, os valores médios de TQIS são significativamente mais elevados ($t_{49}=2,09^*$ critério ato, grupo B+C; $t_{32}=2,18^*$ critério ideação, grupo C), mantendo-se a tendência para cada um dos sexos (feminino: $t_{28}=1,92$ $P=0,06$ e $t_{16}=2,13^*$ respetivamente; masculino: $t_{19}=1,46$ $P=0,16$ e $t_{14}=1,25$ $P=0,23$, respetivamente). Já no que diz respeito aos casos com pelo menos uma adversidade na infância, os valores médios de TQIS são significativamente mais elevados quer seja globalmente ($t_{34}=3,25^{**}$ critério ato grupo A e $t_{51}=2,60^*$ critério ideação grupo A+B) quer em cada um dos sexos, pelo menos em termos de tendência (feminino: $t_{21}=2,59^*$ e $t_{33}=2,29^*$ respetivamente; masculino: $t_{11}=2,23^*$ e $t_{16}=1,50$ $P=0,15$ respetivamente). Estes resultados, apesar da reduzida amostra, sugerem convincentemente que a existência de adversidades na infância contribui para a ideação suicida, sendo especialmente marcada nos casos; inclusivamente parece haver uma diferenciação entre os sexos, especialmente pelo critério ato.

Comparando os valores médios de TQIS entre sexos, tendo em conta quer o critério ato, quer o critério ideação, para os casos não se observam diferenças, quer tenham existido adversidades na infância (grupo A $t_{19}=0,87$ ns e grupo A+B $t_{16}=1,04$ ns) quer não tenham ($t_{13}=1,51$ ns e $t_{22}=1,06$ ns, respetivamente). Já ao considerar os controlos, o valor médio de TQIS é significativamente mais elevado nas mulheres que nos homens, quer tenham existido adversidades na infância (grupo B+C $t_{18}=2,38^*$ e grupo C $t_{14}=3^*$) quer não tenham ($t_{29}=2,35^*$ e $t_{20}=2,11^*$, respetivamente), porém, estas diferenças podem estar enviesadas pelas respostas ao QIS por parte dos homens neste grupo.

i) CONSUMO DE ÁLCOOL NA TENTATIVA

Nota: É apresentada em apêndice uma tabela, relativa ao consumo ou não de álcool na tentativa de suicídio para cada sexo (tabela A27).

Para a presença de álcool na tentativa de suicídio, considerando apenas o sexo feminino, apenas 18,2% destas consumiram álcool na tentativa ao passo que nos homens 38,5% recorreram ao consumo de álcool, contudo, não se observa significância ($\chi^2=0,86$, $P=0,35$), o que poderá dever-se ao facto da dimensão da amostra ser relativamente pequena.

j) MÉTODO DA TENTATIVA DE SUICÍDIO^h

Realizaram-se gráficos referentes aos métodos usados nas tentativas de suicídio, para a amostra no global e para cada um dos sexos (figura 8), subdividindo ainda como tentativa violenta ou não violenta.

A divisão das tentativas de suicídio, em não violentas ou violentas, foi feita de acordo com alguma da bibliografia consultada ^{2 5 11}, considerando-se deste modo tentativas não violentas aquelas que ocorreram por intoxicação medicamentosa e, como tentativas

^h Para a análise que se realizou, relativamente aos indivíduos que tinham realizado mais do que uma tentativa de suicídio, no caso de terem realizado tanto tentativas violentas como não violentas, foram consideradas as violentas e, em segunda instância, no caso dos indivíduos que tinham realizado várias tentativas de suicídio violentas, foi considerada a primeira delas.

violentas todas as outras (intoxicação com químicos, cortes, enforcamento e precipitação).

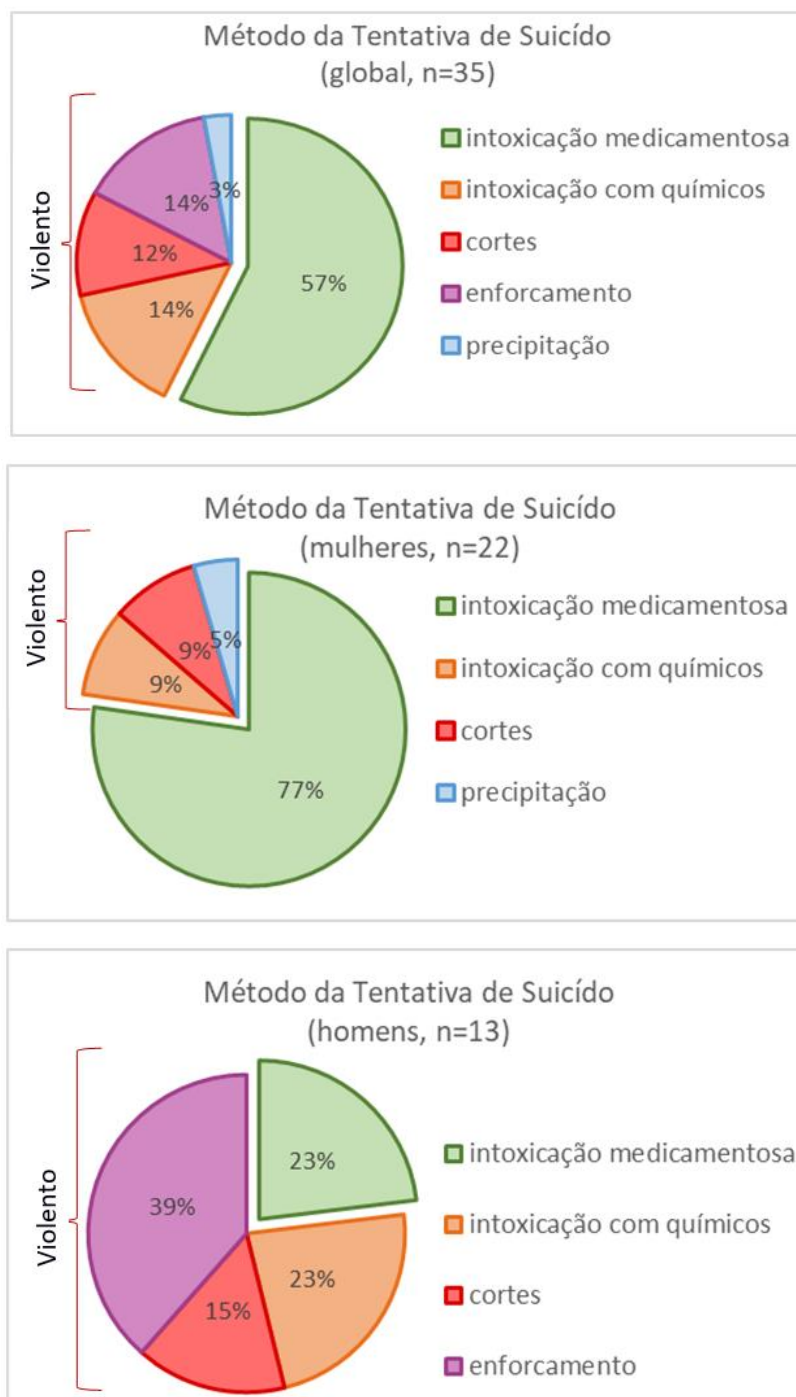


Figura 8 - Gráficos representativos dos métodos utilizados nas tentativas de suicídio (intoxicação medicamentosa, intoxicação com químicos, cortes, enforcamento e precipitação),destacando-se o conjunto de métodos violentos. De cima para baixo: para o global, para o sexo feminino, para o sexo masculino

k) LETALIDADE DA TENTATIVA DE SUICÍDIO

As percentagens de casos com tentativas de letalidade elevada sugerem uma associação com a presença de adversidades na infância, embora estatisticamente não significativa (68% possui pelo menos uma adversidade vs. 31% sem adversidades, $\chi^2=1,71$, $P=0,19$), especialmente no sexo feminino (90% possui pelo menos uma adversidade vs. 45% sem adversidades, $\chi^2=2,89$, $P=0,09$).

As tentativas de suicídio com letalidade elevada surgem associadas a valores médios de idade mais elevados (grupo A, $t_{33}=2,19^*$), observando-se a mesma tendência em ambos os sexos (sexo masculino $t_{11}=1,86^*$ e sexo feminino $t_{20}=1,46$, $P=0,17$).

l) VIOLÊNCIA DA TENTATIVA DE SUICÍDIO

Tabela 6 – Representação das tentativas de suicídio de acordo com a sua classificação em violenta ou não violenta, no sexo feminino, no masculino e global, e respetivas percentagens.

| Violência da Tentativa | Violenta | Não Violenta |
|-------------------------------|-----------------|---------------------|
| Feminino | 5 (33,3%) | 17 (85%) |
| Masculino | 10 (66,7%) | 3 (15%) |
| Global | 15 (42,9%) | 20 (57,1%) |

A violência da tentativa de suicídio parece depender do sexo ($\chi^2=7,71^{**}$), sendo a maioria das tentativas de suicídio violentas realizadas por homens (66,7%).

Não foi demonstrada associação entre a presença de adversidades na infância e as tentativas de suicídio serem violentas, quer globalmente ($\chi^2=2 \times 10^{-3}$ ns), quer em qualquer um dos sexos (sexo masculino $\chi^2=0,78$ ns e sexo feminino $\chi^2=9,9 \times 10^{-3}$ ns).

m) HISTÓRIA FAMILIAR DE SUICÍDIO

Nota: É apresentada em apêndice uma tabela, relativa à presença ou ausência de história familiar de suicídio para cada sexo (tabela A28).

A presença de história familiar de suicídio, embora seja globalmente mais frequente nos casos, não tem uma associação significativa (43% A vs. 29% B+C, $\chi^2=1,11$ ns; 42% A+B vs. 24% C, $\chi^2=2,42$ ns); dentro de cada sexo não se observa nenhuma tendência (exceto talvez no sexo masculino, critério ideação, 39% A+B vs. 13% C, $\chi^2=1,83$ P=0,18), e entre sexos também não.

Testou-se ainda a associação do pensamento/comportamento suicida com as diversas combinações de presença e ausência de adversidades na infância e história familiar de suicídio, e embora não se demonstrasse uma associação significativa, os contrastes são sugestivos: a ausência de ambas parece estar sobretudo associada ao grupo controlo (45% B+C vs 26% A, P=0,11; 50% C vs 29% A+B, P=0,08), assim como a presença de ambas parece estar sobretudo associada ao grupo caso, principalmente quando temos em conta o critério ideação (26% A vs 14% B+C, P=0,26; 25% A+B vs 9% C, P=0,11).

Apesar de aparentemente serem globalmente independentes entre si ($\chi^2=0,49$ ns), a hipótese de interação entre adversidades na infância e história familiar de suicídio foi também analisada tendo em conta os valores médios do score do QIS. Deste modo, analisando apenas o grupo caso segundo o critério ideação (A+B), o facto de existirem adversidades na infância, promove um aumento diferencial do score de QIS na ausência ou presença de história familiar de suicídio (aumento em média de 9 pontos e de 20 pontos, respetivamente) o que parece revelar uma possível interdependência entre estas variáveis. Dados estes valores, realizaram-se dois testes de comparação de médiasⁱ, um entre os indivíduos com adversidades na infância e com história familiar de suicídio (vs. restante amostra do grupo A+B, $t_{51}=1,93$, P=0,06) e outro em indivíduos sem nenhuma das duas (vs. restante amostra do grupo A+B, $t_{51}=2,63$ *); este último resultado pode ser influenciado pelo enviesamento dos scores QIS detetado nos controlos do sexo masculino, mas o primeiro sugere que há um efeito cumulativo entre as duas variáveis, nomeadamente, que indivíduos que tenham passado por adversidades na infância e que possuam história familiar de suicídio, possuem em média scores de QIS mais altos que os restantes indivíduos da amostra. Contudo, será de referir que existem indivíduos sem história familiar de suicídio, sem adversidades na

ⁱ Utilizando os valores de TQIS

infância e com um baixo score de QIS que se tentam suicidar, pondo em relevo outros fatores, quer sejam ambientais quer genotípicos.

Especificamente no grupo caso, a importância da história familiar de suicídio foi examinada dentro do contexto de presença ou ausência de adversidades na infância, separadamente. Detetou-se, segundo o critério ato, uma diferença significativa do score médio do QIS sem adversidades na infância, mais elevado nos indivíduos que possuem história familiar de suicídio ($t_{13}=2,59^*$, grupo A), mas não pelo critério ideação ($t_{22}=1,47$ ns, grupo A+B). Contudo, na presença de adversidades na infância, o efeito da história familiar de suicídio, embora aumente o score médio do QIS, não é significativo ($t_{18}=0,98$ ns e $t_{26}=1,23$ ns, respetivamente).

Ainda no grupo caso, foi realizada uma ANOVA bifatorial, avaliando história familiar de suicídio vs. adversidades na infância para os valores de QIS (considerando o grupo A para o critério ato e o grupo A+B para o critério ideação), na qual se obteve um valor estatisticamente significativo para ambos os critérios, para as adversidades na infância (critério ato $F_{1;34}=8,41^{**}$ e critério ideação $F_{1;49}=4,73^*$), embora o valor para o critério ideação só se tenha tornado significativo ao assimilar-se a componente de interação ao resíduo. Além disso, para o critério ato esteve-se perto de obter significância estatística para a história familiar de suicídio ($F_{1;34}=3,18$, $P=0,08$).

Os respetivos controlos não foram incluídos devido à hipótese de enviesamento do QIS que se tinha colocado inicialmente.

Em resumo, embora seja difícil de evidenciar na nossa amostra, parece existir uma associação entre adversidades na infância e história familiar de suicídio: por um lado, o efeito cumulativo de ambas para o score médio de QIS; por outro, dentro do grupo caso (critério ato), a eventual relevância da história familiar de suicídio em indivíduos que não tiveram adversidades na infância.

n) ESTADO CIVIL

Nota: É apresentada em apêndice uma tabela, relativa aos estados civis e a sua distribuição para cada sexo (tabela A29).

Tendo em conta o pensamento/comportamento suicida, este parece ser independente da situação familiar (critério ato $\chi^2=1,66$, $P=0,20$ e critério ideação $\chi^2=1,91$, $P=0,17$), contudo, a proporção de indivíduos casados ou em união de facto é superior no grupo B+C vs. A, quando se considera o critério ato, e no grupo C vs. A+B, quando se considera o critério ideação (44% grupo A vs. 61% grupo B+C e 47% grupo A+B vs. 65% grupo C, respetivamente). Já quando se considera cada sexo as proporções mantêm-se semelhantes ao global (sexo feminino – critério ato $\chi^2=0,72$ ns, 48% grupo A vs. 63% grupo B+C e critério ideação $\chi^2=0,59$ ns, 51% grupo A+B vs. 67% grupo C; sexo masculino – critério ato $\chi^2=0,50$ ns, 38% grupo A vs. 57% grupo B+C e critério ideação $\chi^2=1,06$ ns, 39% grupo A+B vs. 63% grupo C).

Comparando sexos, quer seja no grupo caso (critério ato, grupo A e critério ideação, grupo A+B) quer seja no grupo controlo (grupo B+C e grupo C, respetivamente), observa-se uma independência em relação à situação familiar (caso – $\chi^2=0,04$ ns critério ato e $\chi^2=0,33$ ns critério ideação; controlo - $\chi^2=0,02$ ns e $\chi^2=0,01$ ns, respetivamente).

o) FILHOS

É apresentada de seguida uma tabela (tabela 7), relativa à presença ou ausência de filhos e a sua distribuição para cada sexo.

Tabela 7 – Distribuição, de acordo com ter ou não ter filhos, para o sexo feminino, masculino e global, e respetivas percentagens

| Filhos | Sim | Não |
|-------------------------|------------|------------|
| Feminino | 46 (69%) | 7 (35%) |
| Masculino | 21 (31%) | 13 (65%) |
| Total da amostra | 67 (77%) | 20 (23%) |

Nesta amostra, mostrou-se que a presença ou não de pensamento/comportamento suicida é independente da existência de filhos, tanto de acordo com o critério ato como com o critério ideação ($\chi^2=0,16$ ns e $\chi^2=0,13$ ns, respetivamente). Já ao considerarmos as diferenças entre sexos apenas nos controlos ou apenas nos casos, as coisas são diferentes. Falando nos casos, segundo o critério ato não se observa significância estatística ($\chi^2=0,73$ ns, grupo A), pelo contrário, segundo o critério ideação, observa-se

uma diferença significativa ($\chi^2=3,91^*$, grupo A+B), existindo neste grupo uma maior proporção de mulheres com filhos do que homens; porém, nesta amostra esse contraste entre sexos parece aplicar-se globalmente, independentemente de serem casos ou controlos ($\chi^2=5,98^*$, amostra total). Uma observação mais cuidada dos dados (figura A30) esclarece que a classe com ideação suicida (A+B) é praticamente da mesma proporção entre homens sem filhos (54%) e com filhos (52%), enquanto nas mulheres aumenta de 57 para 67%; por isso, mesmo que houvesse igual proporção de indivíduos com filhos entre os dois sexos, manter-se-ia a tendência para uma maior proporção de mulheres com ideação suicida entre as que têm filhos, assim validando o contraste entre sexos na interdependência entre ter filhos e ideação suicida.

Complementarmente, nos controlos observa-se significância estatística para o critério ato ($\chi^2=4,22^*$, grupo B+C), mas não para o critério ideação ($\chi^2=0,97$ ns, grupo C). Este facto resulta do contraste entre sexos, para a presença de filhos, no grupo B: 1 mulher sem filhos e 11 mulheres com filhos, mas 3 homens sem filhos e 2 homens com filhos.

Analisando a situação de uma outra maneira e, embora não seja estatisticamente significativo ($\chi^2=0,47$ ns), ao observar os indivíduos com filhos e comparando entre sexos, observa-se globalmente uma maior proporção de homens a “passar ao ato” (passagem do grupo B ao A – 82%) do que mulheres (65%) (figura A30).

p) ESCOLARIDADE

Nota: É apresentada em apêndice uma tabela, relativa ao nível de escolaridade para cada sexo (tabela A31).

Uma mais baixa escolaridade (sem escolaridade ao 12º ano), comparativamente com uma escolaridade mais elevada (ensino superior), parece poder ter alguma relação com as tentativas de suicídio e ideação suicida, embora não seja estatisticamente significativo, os resultados poderão sugerir uma tendência quando se trata do critério ideação ($\chi^2=1,22$, $P=0,27$; baixa escolaridade: 83% grupo A+B e 71% grupo C). Já quando se considera o critério ato não se observa qualquer relação ($\chi^2=0,04$ ns). Tais resultados parecem dever-se às mulheres, pois para o grupo caso nota-se uma tendência a uma escolaridade mais baixa, quando se considera o critério ideação ($\chi^2=3,26$, $P=0,07$; baixa escolaridade: 83% grupo A+B e 56% grupo C).

Relativamente ao grau de escolaridade, cada um dos níveis que foram tidos em conta (sem escolaridade-6º ano; 7º ano – 12º ano e ensino superior) possui uma representação muito semelhante entre sexos, quer globalmente (figura 9), quer em casos (grupo A para o critério ato e grupo A+B para o critério ideação), quer em controlos (grupo B+C para o critério ato e grupo C para o critério ideação).

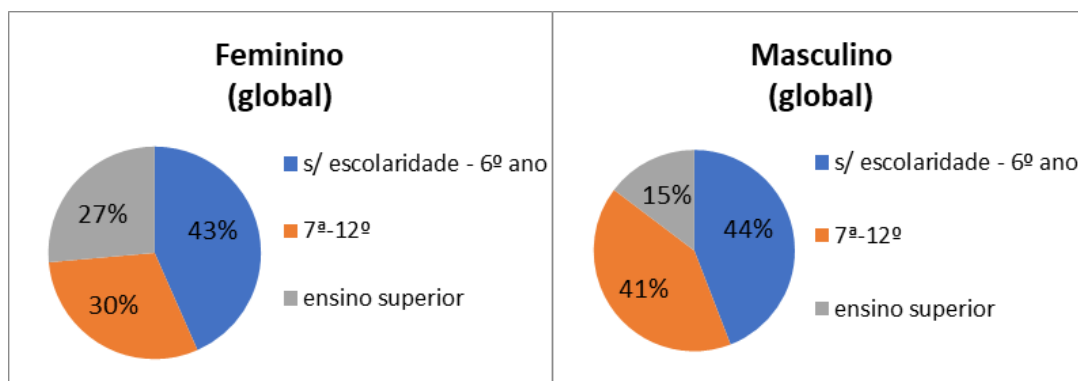


Figura 9 – Gráficos representativos do nível de escolaridade (<7º ano, 7º-12º ano, ensino superior) juntando casos e controlos, no sexo feminino e sexo masculino.

Porém, ao considerarmos apenas o grupo A (grupo caso segundo o critério ato) essa semelhança entre sexos deixa de existir, como se observa na figura 10, pelo que se colocou a hipótese de, nos homens, a baixa escolaridade poder ter influência sobre o comportamento suicida ($\chi^2=0,01$ ns).

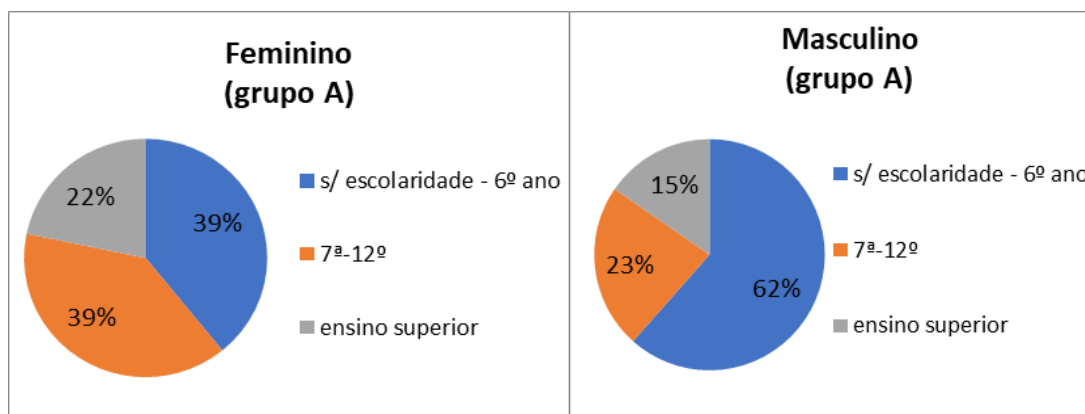


Figura 10 – Gráficos representativos do nível de escolaridade (<7º ano, 7º-12º ano, ensino superior) para o grupo A no sexo feminino e sexo masculino

Relativamente ao grupo C (grupo controlo segundo o critério ideação) observa-se igualmente uma grande discrepância entre sexos (figura 11, cima), porém, não se observam significâncias estatísticas para nenhuma destas diferenças. Observando-se ainda uma tendência no mesmo sentido relativamente ao grupo B+C (grupo controlo segundo o critério ato) (figura 11, baixo), não existindo igualmente significância.

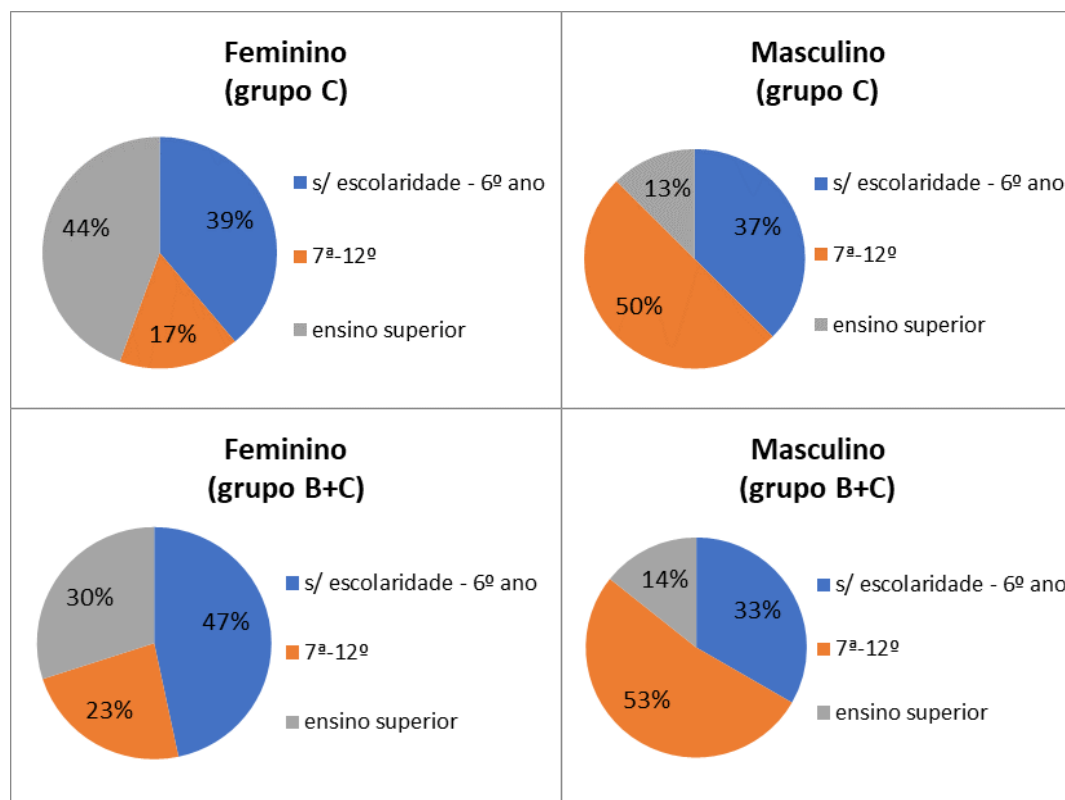


Figura 11 – Gráficos representativos do nível de escolaridade (<7º ano, 7º-12º ano, ensino superior) para os controlos, nos critérios ideação (grupo C, fila de cima, sexo feminino e sexo masculino) e ato (grupo B+C, fila de baixo, sexo feminino e sexo masculino).

Considerando a possibilidade de existir uma relação entre o grau de escolaridade e o score obtido no QIS, foram realizados diversos testes, inicialmente comparando casos com controlos, e em que se obteve significância estatística para todos eles, quer para o critério ato (grupo A vs. B+C) quer para o critério ideação (grupo A+B vs. C) (sem escolaridade-6º ano: $t_{36}=3,81^{***}$ e $t_{36}=5,90^{***}$; 7º-12º ano: $t_{28}=3,41^{**}$ e $t_{28}=5,86^{***}$; ensino superior: $t_{17}=3,20^{**}$ e $t_{17}=3,80^{**}$, respetivamente), concluindo-se assim que, independentemente da escolaridade, a média de TQIS é mais elevada nos casos do que nos controlos.

As diferentes escolaridades foram ainda comparadas entre sexos, tendo em conta os seus scores de QIS, pelo que se obteve significância estatística tanto para o grupo sem escolaridade-6º ano ($t_{36}=2,31^*$), como para o grupo 7º-12º ano ($t_{28}=2,82^{**}$), nos quais as médias dos valores de TQIS foram superiores nas mulheres; mas não para o grupo ensino superior ($t_{17}=0,75$ ns), contudo, estes resultados podem não ter significado, tendo em conta a suspeita de enviesamento provocada pelos indivíduos do sexo masculino do controlo.

Apenas no grupo caso, diferenças entre sexos: Para o critério ato, embora se observe uma média dos valores de TQIS ligeiramente mais elevada nas mulheres para os primeiros dois grupos de escolaridade e ligeiramente superior nos homens no ensino superior, não se obtém significância estatística para nenhum grupo de escolaridade (<7º ano: $t_{15}=2,11$ $P=0,052$; 7º-12º ano: $t_{10}= 1,09$ ns; >12º ano: $t_5= 1,16$ ns) e o mesmo acontece de acordo com o critério ideação (<7º ano: $t_{23}=1,63$ ns; 7º-12º ano: $t_{17}= 1,10$ ns; >12º ano: $t_7= 1,08$ ns).

q) SITUAÇÃO LABORAL

Nota: É apresentada em apêndice uma tabela, relativa à situação laboral para cada sexo (tabela A32).

Nesta amostra o horário de trabalho (trabalho de dia vs. noite/turnos) distribui-se de maneira diferente entre os sexos, com uma tendência das mulheres a trabalhar mais de dia e dos homens a trabalhar mais de noite/turnos ($\chi^2=4,75^*$).

Considerando o pensamento/comportamento suicida e a questão de trabalhar ou não trabalhar, observa-se uma maior proporção de mulheres inativas (desemprego/baixa/reforma) e uma maior proporção de homens ativos (trabalho diurno/noturno), tanto de acordo com o critério ato como com o critério ideação, embora só exista significância estatística neste último (grupo A $\chi^2=3,61$, $P=0,06$ e grupo A+B $\chi^2=6,42^*$), o que sugere que os homens sofrem de uma maneira e as mulheres doutra. Se considerarmos os controlos não existem estas diferenças ao nível de trabalhar ou não trabalhar (grupo B+C $\chi^2=27 \times 10^{-5}$ ns e grupo C $\chi^2=0,41$ ns). Portanto, a ausência de trabalho nas mulheres parece contribuir para o pensamento/comportamento suicida,

enquanto para os homens parece ser precisamente o oposto, possivelmente o stress derivado do trabalho contribui para tal comportamento.

Já ao comparar globalmente os casos vs. os controlos, estes são independentes da situação laboral, quer para o critério ato como para o critério ideação, seja entre não trabalhar (desemprego/baixa/reforma) e trabalho diurno ($\chi^2=0,02$ ns e $\chi^2=0,09$ ns, respetivamente para cada critério), entre trabalho diurno e trabalho noturno/turnos ($\chi^2=0,71$ ns e $\chi^2=1,11$ ns, respetivamente) ou entre trabalhar e não trabalhar ($\chi^2=0,55$ ns e $\chi^2=1,03$ ns, respetivamente).

r) COR DOS OLHOS, CABELO e PELE

Testou-se ainda se haveria relação entre o pensamento/comportamento suicida e a cor dos olhos, cabelo e pele, não sendo obtida significância estatística para nenhum deles de acordo com ambos os critérios (critério ato: $\chi^2=0,05$ ns, $\chi^2=1,11$ ns e $\chi^2=0,15$ ns; critério ideação: $\chi^2=3 \times 10^{-4}$, $\chi^2=0,59$ ns e $\chi^2=0,03$ ns, respetivamente).

II PARTE: POLIMORFISMO 5-HTTLPR

a) DETERMINAÇÃO DOS GENÓTIPOS

Cada amplificação foi avaliada por eletroforese em minigel, no sentido de verificar a existência da banda esperada, próxima dos 500 bp, e a respectiva intensidade para determinar se havia suficiente DNA para a análise genotípica (figura 12).

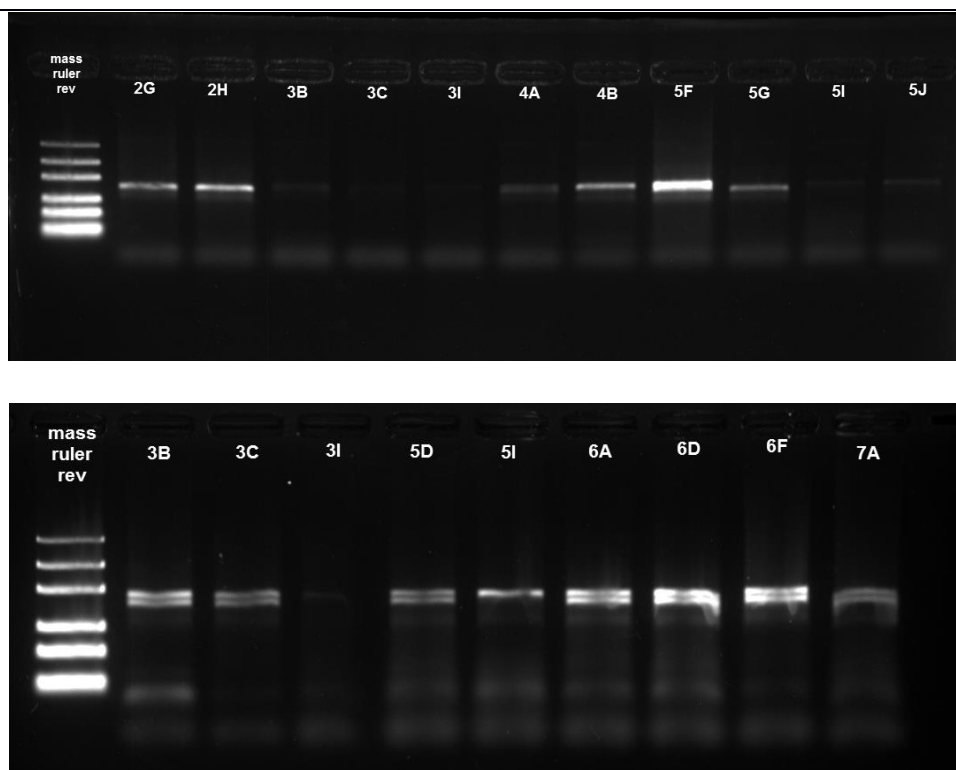


Figura 12 - Progresso da amplificação por aumento da quantidade do volume de extrato incluído na solução de PCR. Em cada imagem apresenta-se a análise de amostras de 5 μ L de solução de PCR após a amplificação, por eletroforese em minigel de agarose a 1,5% em TBE 0,5x, com visualização da fluorescência de GelRed (Biotium) sob luz ultravioleta a 312nm. As bandas comigrando com o marcador de 500 bp (3ª banda o Mass Ruler, cf. Figura 14) correspondem ao amplicon esperado, contendo o 5-HTTLPR. Em cima, exemplo de resultados com 2 μ L, com amostras que não tinham dado sinal suficiente com 1 μ L; as amostras 2G, 2H, 4A, 4B, 5F e 5G 5J apresentam sinal suficiente. Em baixo, exemplo de resultados com 5 μ L, onde todas as amostras menos 3I produziram sinais satisfatórios.

Mesmo após a utilização de 5 μ L de extrato na PCR, houve 3 amostras que não produziram sinais satisfatórios, incluindo a amostra 3I, observada na figura anterior

(figura 12, em baixo). Para essas amostras acabou então por realizar-se uma reamplificação, utilizando 1 μL da solução de PCR anterior (aquela onde se tinham utilizado 2 μL de extrato), na qual se obtiveram os resultados desejados, como se pode observar na figura 13:

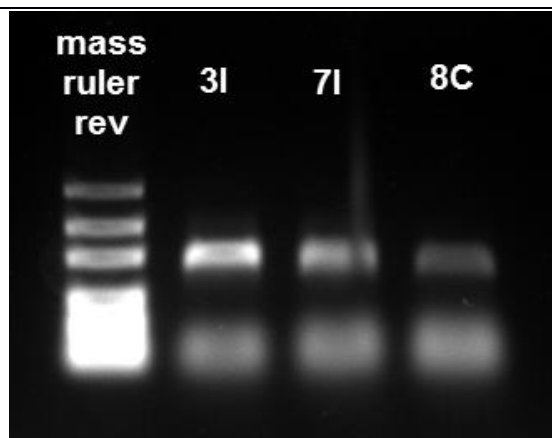


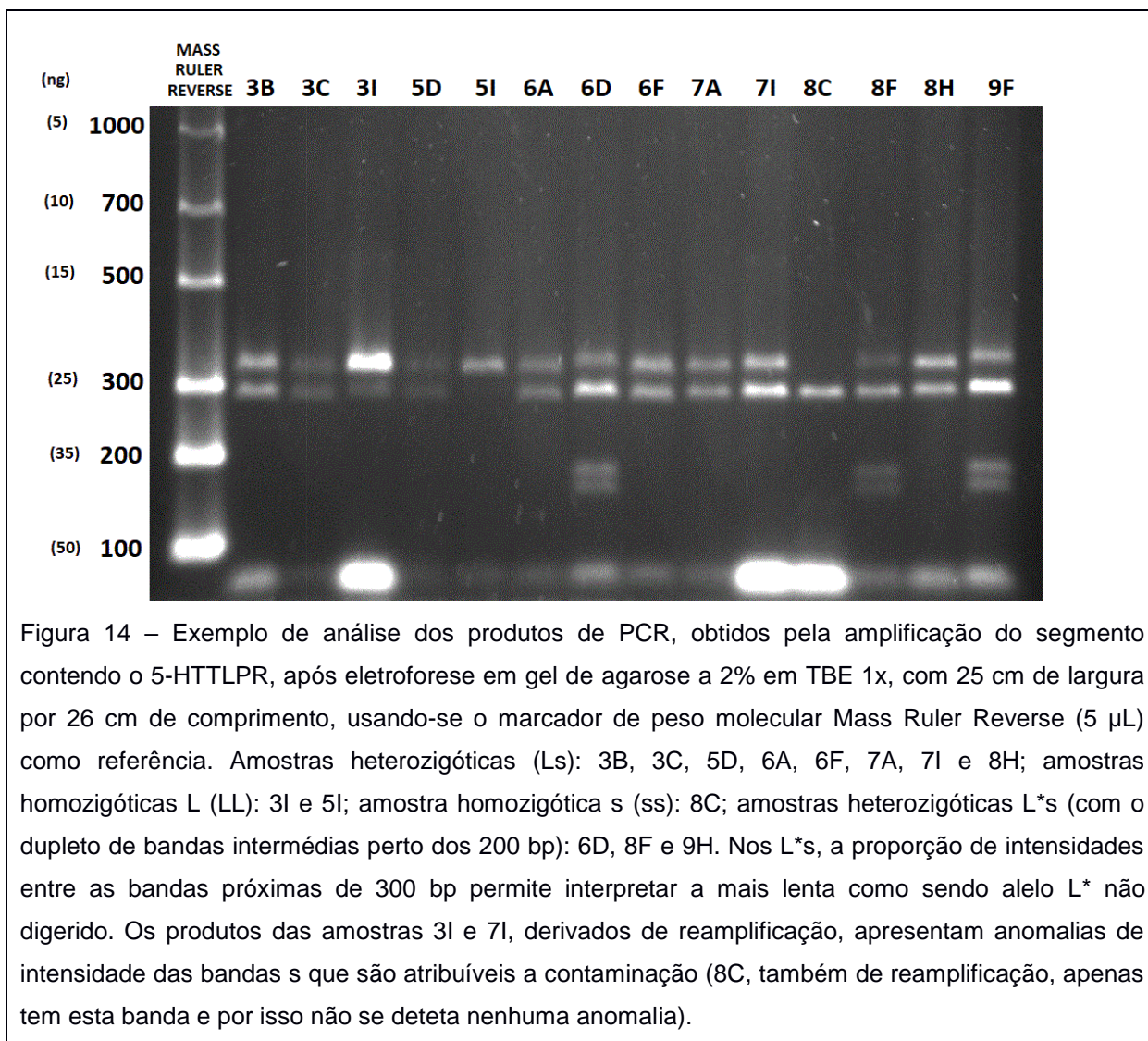
Figura 13 - Resultado da análise de amostras de 5 μL de solução da PCR após reamplificação, por eletroforese conforme descrito na legenda da Figura 12.

Deste modo, para se simplificar, apresenta-se na tabela seguinte as quantidades de DNA (μL) que foram necessárias para a amplificação de cada amostra.

Tabela 8 – Esquema dos volumes de DNA que foram necessários de cada amostra para que se obtivesse um sinal suficientemente forte na sua amplificação.

| Quantidade de DNA necessária | Amostras |
|---|--|
| 1 μL | 1A, 1B, 1C, 1D, 1E, 1F, 1G, 1H, 1I, 1J, 2A, 2B, 2C, 2D, 2E, 2F, 2I, 2J, 3A, 3D, 3E, 3F, 3G, 3H, 3J, 4C, 4D, 4E, 4F, 4G, 4H, 4I, 4J, 5A, 5B, 5C, 5E, 5H, 6E, 7D, 7E, 7J, 8J, 9A, 9B, 9C, 9D, 9E, 9G |
| 2 μL (figura 12, em cima) | 2G, 2H, 4A, 4B, 5F, 5G, 5J, 6B, 6C, 6G, 6H, 6I, 6J, 7B, 7C, 7F, 7G, 7H, 8A, 8B, 8D, 8E, 8G, 8I |
| 5 μL (figura 12, em baixo) | 3B, 3C, 5D, 5I, 6A, 6D, 6F, 7A, 8F, 8H, 9F |
| Reamplificação (utilizando 1 μL da PCR onde se tinham usado 2 μL) (figura 13) | 3I, 7I, 8C |

Posto isto, como referido nos Materiais e Métodos, os produtos das PCRs foram incubados com a enzima de restrição *MspI*, sendo posteriormente analisados por eletroforese. Esta reação remove fragmentos constantes num total de 121 bp, permitindo realçar o polimorfismo 5-HTTLPR cerca dos 300 bp. A eletroforese permitia distinguir com clareza os alelos L, s e L* (figura 14).



Como esperado, as condições utilizadas permitem resolver os produtos dos alelos L e s, separados entre si por 44 bp, à volta da zona de migração dos 300bp. Adicionalmente, observava-se uma banda abaixo dos 100 bp, provavelmente resultante da amplificação dos próprios primers (*primer-dimers*), e em algumas amostras, um duplete de bandas de cerca de 180 e 160 bp, que pela estimativa do respetivo tamanho somavam em conjunto os \approx 340 bp da banda L.

Como a ocorrência deste duplete em amostras com genótipo Ls implicava sempre uma menor intensidade da banda L relativamente à banda s (figura 14, 6D por exemplo), colocou-se a hipótese de tratar-se de digestão parcial do DNA da banda L pela enzima *MspI*. A sequenciação dos produtos de amplificação da amostra 9G (genótipo LL*, ou seja LL + bandas intermédias) confirmou que se trata dum heterozigótico, com uma transição A → G que cria um sítio de corte *MspI* (5'GCCG) em posição compatível com o tamanho dos fragmentos representados pelas bandas intermédias (Figura 15).

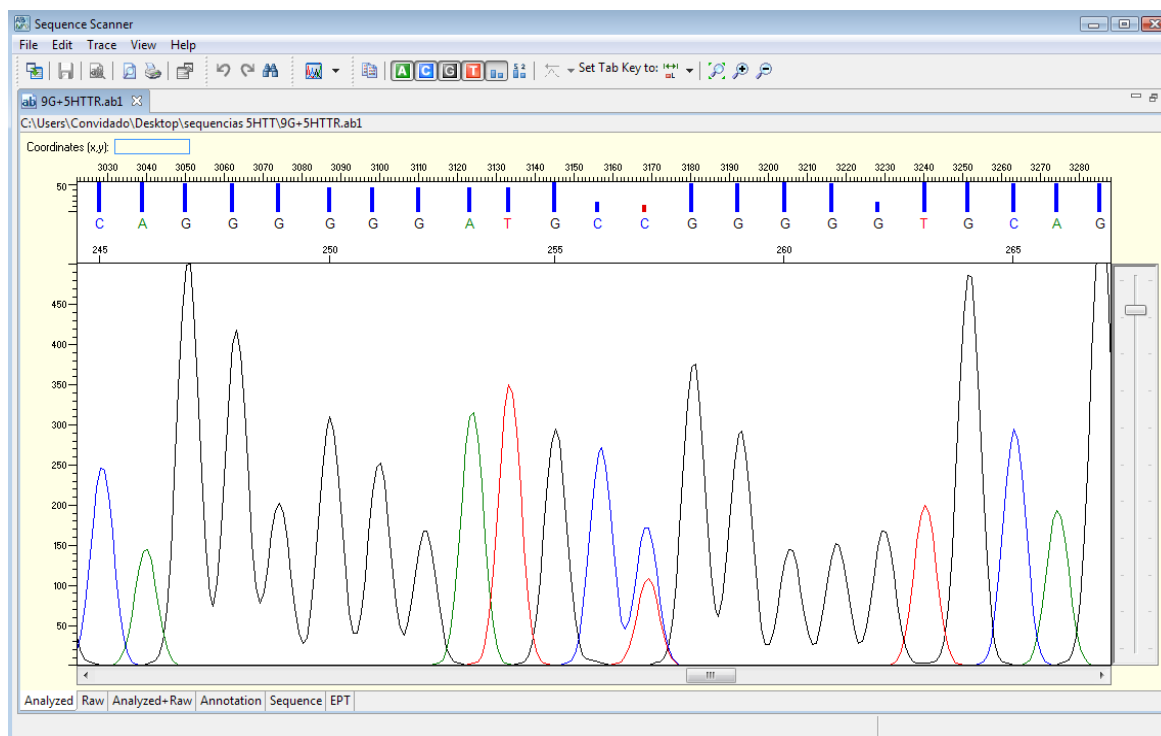


Figura 15 – Resultado da sequenciação da amostra 9G amplificada pelos primers 5HTTf e 5HTTr, lida a partir do primer 5HTTr (cadeia *reverse*), representando a região contendo a posição polimórfica (257) que cria um sítio de restrição 5'GCCG correspondente ao alelo L*.

Pela consulta da literatura (De Luca et al. 2005)⁷⁸, a mutação detetada corresponde ao polimorfismo rs25531, ou seja, aos alelos L_A e L_G, mas por conveniência continuará a designar-se este último como L* no presente trabalho, sendo a designação L representativa do conjunto de ambos na forma bialélica, ou apenas do alelo L_A na forma funcional.

b) ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS GENÓTIPOSⁱ

Na tabela 9 apresenta-se a distribuição dos dados pelos diversos genótipos:

Tabela 9 – Distribuição do número de indivíduos de cada subgrupo da amostra (A, B e C), o total e combinações B+C (controles, critério ato) e A+B (casos, critério ideação), de acordo com o seu genótipo (LL, LL*, Ls, L*s e ss). Entre parêntesis, a dimensão de cada grupo.

| Genótipo | | | | | |
|-----------------|----|-----|----|-----|----|
| Grupo | LL | LL* | Ls | L*s | ss |
| A (36) | 9 | 1 | 18 | 3 | 5 |
| B (17) | 3 | 1 | 9 | 0 | 4 |
| C (34) | 6 | 0 | 16 | 3 | 9 |
| Total | 18 | 2 | 43 | 6 | 18 |
| B+C (51) | 9 | 1 | 25 | 3 | 13 |
| A+B (53) | 12 | 2 | 27 | 3 | 9 |

As frequências dos alelos nesta amostra foram: **s** – 48,9%, **L** – 46,6%, **L*** – 4,6%, sendo a primeira ligeiramente mais elevada que as que se encontram na literatura sobre este marcador.^{4 35 38}

A distribuição dos genótipos não se desvia do esperado pelo modelo de Hardy-Weinberg ($\chi^2=0,4829$, $P=0,49$).

c) RELAÇÃO ENTRE O GENÓTIPO E O COMPORTAMENTO SUICIDA

De acordo com a amostra do estudo, o comportamento suicida surge como independente do genótipo 5-HTTLPR ($\chi^2=2,27$ ns).

ⁱ Os resultados apresentados de seguida, quando não fazem uma distinção explícita entre alelo L e L*, consideram o alelo L*=L (versão bialélica). Posteriormente vão analisar-se os dados de maneira diferente, considerando L*=s (versão funcional), sendo esta questão defendida depois no capítulo da Discussão.

Tabela 10 – Resultados do teste de independência entre genótipos e os diversos subgrupos da amostra. gl, graus de liberdade; P, erro tipo I.

| Genótipos | Grupos | χ^2 | gl | P | resultado |
|-----------|--------------------------|----------|----|------|-------------------|
| LL/Ls/ss | cada grupo (A/B/C) | 2,27 | 4 | 0,69 | não significativo |
| | critério ideação (A+B/C) | 1,60 | 2 | 0,45 | não significativo |
| | critério ato (A/B+C) | 2,03 | 2 | 0,36 | não significativo |
| LL/Ls+ss | cada grupo (A/B/C) | 1,02 | 2 | 0,60 | não significativo |
| LL+Ls/ss | cada grupo (A/B/C) | 1,79 | 2 | 0,41 | não significativo |
| LL+ss/Ls | cada grupo (A/B/C) | 0,14 | 2 | 0,93 | não significativo |
| | critério ato (A/B+C) | 0,04 | 1 | 0,84 | não significativo |

Mas será que o genótipo (LL, Ls e ss) varia quando se comparam os casos com os controlos? Seja de acordo com o critério ato ou com o critério ideação, segundo os testes realizados, estes são independentes, quer seja para a homozigotia ss ($\chi^2=1,10$ ns e $\chi^2=0,63$ ns, respetivamente), para a homozigotia LL ($\chi^2=0,40$ ns e $\chi^2=0,47$ ns, respetivamente) ou para a heterozigotia Ls ($\chi^2=0,01$ ns e $\chi^2=0,02$ ns, respetivamente) (tabelas A33 e A34). Considerando apenas o sexo feminino ou apenas o sexo masculino obtém-se igualmente, sempre, independência (Tabelas A35 a A38).

Ao considerarmos os valores de TQIS, para a amostra global, observamos igualmente independência em relação ao genótipo ($F_{2;84}=0,81$ ns) mas, apesar dessa independência, observamos que quanto mais genes s (ou seja, de LL para Ls e para ss) menor a média do TQIS; esta tendência, como se verá adiante, não se encontra em nenhum dos subgrupos, sendo antes uma “média” entre casos e controlos. O TQIS é ainda independente do genótipo (LL, Ls e ss), para qualquer um dos grupos, seja para os casos (critério ato: grupo A $F_{2;33}=2,25$ ns e critério ideação: grupo A+B $F_{2;50}=0,98$ ns) ou para os controlos (grupo B+C $F_{2;48}=0,90$ ns e grupo C $F_{2;31}=0,72$ ns, respetivamente). Porém, as médias sugerem padrões diferentes entre os grupos. No grupo caso, o valor médio de TQIS é maior no genótipo heterozigótico Ls do que no conjunto dos homozigóticos (LL+ss), quer considerando o critério ato (grupo A, $t_{34}=2,39^*$), quer o critério ideação (grupo A+B, $t_{51}=1,71$, $P=0,09$). Já no grupo controlo, o valor médio de TQIS é maior no genótipo LL face ao conjunto Ls+ss, embora não

seja estatisticamente significativo (grupo B+C $t_{49}=1,24$, $P=0,22$ e grupo C $t_{32}=1,10$, $P=0,28$). Estes dois padrões estão associados aos grupos A e C, respetivamente, enquanto no B as médias do TQIS são muito semelhantes entre os 3 genótipos.

Tendo em conta as diferenças observadas entre sexos dentro dos casos, o genótipo LL corresponde a valores de TQIS superiores no sexo feminino aos do LL masculino, de forma significativa quando se considera o critério ideação ($t_{12}=2,92^*$) e não significativa, mas mostrando a mesma tendência, quando se considera o critério ato ($t_8=1,97$, $P=0,09$).

d) RELAÇÃO ENTRE O GENÓTIPO E AS ADVERSIDADES NA INFÂNCIA

Comparando os casos com os controlos nos indivíduos pertencentes ao subgrupo com alelo s (Ls+ss), não se encontra uma associação significativa com as adversidades na infância tanto considerando o critério ato ($\chi^2=3,04$, $P=0,08$, 62% grupo A vs. 37% grupo B+C) como o critério ideação ($\chi^2=1,49$, $P=0,22$, 54% vs. 36%), embora com contrastes sugestivos que levam a ponderar se o facto de possuir alelo s e passar por pelo menos uma adversidade na infância não poderá contribuir para o comportamento suicida. Considerando a mesma questão (no mesmo subgrupo) observa-se que o sexo é independente das adversidades na infância, quer nos casos (critério ato: grupo A, $\chi^2=0,14$ ns ; critério ideação: grupo A+B, $\chi^2=7,2 \times 10^{-4}$ ns) quer nos controlos (grupo B+C, $\chi^2=3,1 \times 10^{-3}$ ns e grupo C, $\chi^2=0,16$ ns, respetivamente), assim como dentro do sexo masculino. Porém, no sexo feminino observa-se um contraste semelhante ao global, apenas para o critério ato ($\chi^2=2,06$, $P=0,15$, 67% grupo A vs. 39% grupo B+C).

Considerando o mesmo que o parágrafo anterior, mas tendo em conta o subgrupo com alelo L (LL+Ls) observa-se independência para todas as questões discutidas, embora, tendo em conta o critério ato e considerando apenas o sexo feminino, se observe uma percentagem bastante mais elevada de mulheres que já passaram por pelo menos uma adversidade na infância e já tentaram suicidar-se face às que nunca tentaram ($\chi^2=1,64$, $P=0,20$, 70% grupo A vs. 45% grupo B+C).

Da mesma maneira se observa a independência para outros subgrupos (LL, ss, LL+ss, e Ls) embora se observem algumas percentagens marcadamente superiores de indivíduos que passaram por pelo menos uma adversidade na infância, nomeadamente

quando se considera a homozigotia em geral (LL+ss critério ideação, $\chi^2=1,49$, $P=0,22$, 52% grupo A+B vs. 27% grupo C) e ainda quando se considera a heterozigotia Ls (critério ato, $\chi^2=2,59$, $P=0,11$, 67% grupo A vs. 39% grupo B+C).

No grupo caso com adversidades na infância, o valor médio de TQIS é ligeiramente mais elevado nos Ls (1,95 grupo A e 1,87 grupo A+B) que no conjunto dos LL e dos ss (1,70 grupo A; 1,62 grupo A+B) mas, realizando um teste de comparação de médias, entre heterozigóticos (Ls) vs. homozigóticos (LL+ss) a diferença não é significativa ($t_{19}=1,81$, $P=0,08$ grupo A e $t_{27}=1,99$, $P=0,06$ grupo A+B).

A tendência acima não se observa nos casos sem adversidades na infância (critério ato, grupo A: LL 1,31, Ls 1,57, ss 1,51, $t_{14}=-0,89$ ns). Em contrapartida, seguindo o critério ideação, a tendência com o valor médio de TQIS é de aumentar à medida que aumenta o número de genes s (LL 1,35, Ls 1,52 e ss 1,65 grupo A+B) embora realizando-se um teste de regressão sobre o número de genes s este não seja significativo ($r^2=6,7\%$, $P=0,22$). Porém há que referir que ao ter em conta a mediana, e não a média, é o genótipo Ls que possui o TQIS mais elevado (LL 1,31, Ls 1,64 e ss 1,60 grupo A+B).

Quando analisados os valores médios de TQIS segundo os genótipos, observaram-se algumas diferenças sugestivas para além das que já estavam verificadas para ter ou não ideação suicida (A+B vs. C). Especialmente notável foi a marcada diferença entre os genótipos LL e ss no grupo C sem adversidades ($t_9=2,57$ *)^k.

Outras diferenças entre genótipos não foram julgadas tão fiáveis, ou porque o número de indivíduos era muito baixo, ou porque o risco de enviesamento pelos controlos masculinos com score QIS igual a 0.

^k Refere-se apenas a comparação com ss pois, ao contrário deste genótipo onde apenas havia 1 homem com score QIS = 0, no genótipo Ls pode haver algum efeito de enviesamento devido ao elevado número de homens com esse score; com esta ressalva, regista-se uma diferença significativa entre LL e o grupo Ls+ss ($t_{20}=2,93$ **)

Tabela 11 – Valores médios e desvios-padrão de TQIS para cada genótipo, em casos e controles (critério ideação, A+B / C), de acordo com possuir ou não adversidades. A coluna de comentários refere alguns aspetos que podem influenciar a interpretação: 9 indivíduos controlo Ls do sexo masculino sem adversidades com score de QIS=0; baixa representação (n) de controlo homozigóticos. Destaca-se o resultado dos controlos LL sem adversidades (fundo colorido), com um valor especialmente elevado.

| | | LL | Ls | ss | Comentário |
|-------------------------|-----|-------------|-------------|-------------|------------------------------------|
| Sem adversidades | A+B | 1,35 ± 0,20 | 1,52 ± 0,31 | 1,65 ± 0,72 | |
| | C | 1,18 ± 0,60 | 0,17 ± 0,69 | 0,22 ± 0,75 | Ls: possível enviesamento do score |
| Com adversidades | A+B | 1,66 ± 0,42 | 1,87 ± 0,40 | 1,53 ± 0,40 | |
| | C | 0,29 ± 0,91 | 0,89 ± 0,62 | 1,30 ± 0,18 | LL e ss: n=2 em cada |

Realizou-se uma ANOVA bifatorial, para o grupo caso, entre genótipo e adversidades para o valor de TQIS, comparando no primeiro fator entre os 3 genótipos, entre LL e Ls e entre LL e o grupo Ls+ss. Em todas as comparações demonstra-se um efeito significativo para a presença de adversidades na infância (comparando os 3 genótipos: $F_{1;35}=8,73^{**}$ grupo A e $F_{1;52}=5,44^*$ grupo A+B; comparando LL com Ls: $F_{1;30}=10,71^{**}$ grupo A e $F_{1;43}=9,43^{**}$ grupo A+B; comparando LL com Ls+ss: $F_{1;35}=9,17^{**}$ grupo A e $F_{1;52}=5,37^*$ grupo A+B). Além disso, para o critério ato, conseguiu observar-se um efeito significativo para o genótipo quer ao comparar LL com Ls ($F_{1;30}=6,24^*$, grupo A), quer comparando LL com Ls+ss, embora aqui apenas ao incluir a interação no resíduo ($F_{1;33}=4,34^*$, grupo A), apesar de, antes de se incluir o resíduo se estivesse próximo da significância ($F_{1;35}=4,05$ $P=0,05$). Ainda para o genótipo, quase se obteve significância comparando os 3 genótipos, incluindo a interação no resíduo, pelo critério ato ($F_{2;32}=2,86$, $P=0,07$).

e) RELAÇÃO ENTRE O GENÓTIPO E A HISTÓRIA FAMILIAR DE SUICÍDIO

Considerando a história familiar de suicídio, as diferenças percentuais dentro de cada genótipo, comparando casos e controles, refletem uniformemente aquilo que se verificou para o conjunto da amostra.

f) RELAÇÃO ENTRE O GENÓTIPO E A SITUAÇÃO LABORAL

Em relação à situação laboral, comparando casos com controles, a associação dos grupos caso com estar inativo, anteriormente observada no sexo feminino, mantém-se apenas quando se considera o critério ideação quando neste grupo se analisa no genótipo Ls (grupo A+B vs. C: $\chi^2=5,32^*$) e especialmente no subgrupo Ls+LL ($\chi^2=9,43^{**}$), mas não nos outros casos, o que nos indica que a percentagem de mulheres com estes genótipos e que não trabalham, é significativamente mais elevada no grupo com pensamentos e/ou comportamento suicida do que nos restantes (grupo C).

Tendo em conta os resultados obtidos, decidiu comparar-se essas mulheres com o grupo constituído pelas restantes mulheres e os homens, tanto para a heterozigotia (Ls) como para o grupo Ls+LL, obtendo-se significância estatística para ambos, quando considerado o critério ideação ($\chi^2=5,72^*$ e $\chi^2=10,80^{**}$, respetivamente), ou seja, a percentagem de mulheres com estes genótipos, que não trabalham e que possuem pensamentos e/ou comportamento suicida, é significativamente mais elevada que a restante amostra. Já para o critério ato continuou a não observar-se significância estatística, embora se estivesse próximo disso relativamente ao grupo Ls+LL ($\chi^2=3,74$ P=0,05).

g) RELAÇÃO ENTRE O GENÓTIPO E A LETALIDADE DA TENTATIVA

Para a letalidade alta, a percentagem de Ls (65%) é maior que nos homozigóticos (44% em LL e 40% em ss) mas, recorrendo-se a um teste de independência para comparar heterozigóticos (Ls) com o grupo de homozigóticos (LL+ss) não se observa significância ($\chi^2=0,86$ ns). Esta diferença parece dever-se aos resultados observados no sexo masculino, onde 83% dos Ls fizeram uma tentativa de suicídio com letalidade alta, enquanto nas mulheres os resultados não parecem sugerir grandes tendências -

53% das mulheres com genótipo Ls realizou uma tentativa de suicídio de letalidade alta; porém, devido ao número reduzido de indivíduos não se obtém significância estatística num e noutro sexo ($\chi^2=0,17$ ns e $\chi^2=0,39$ ns respetivamente).

Uma vez que existe literatura a apontar para uma ligação entre os genótipos contendo o alelo s (Ls+ss) e as tentativas de suicídio mais letais (apud. Gorwood et al., 2000) ³³ tal foi também testado nesta amostra. Porém, observa-se independência entre esses genótipos e a letalidade das tentativas de suicídio ($\chi^2=0,17$ ns).

h) RELAÇÃO ENTRE O GENÓTIPO E A VIOLÊNCIA DA TENTATIVA

Passando à questão da violência da tentativa de suicídio, observa-se um aumento da percentagem de indivíduos com tentativa(s) violenta(s) à medida que o número de genes s aumenta (desde 33% nos LL até 60% nos ss), contudo, ao comparar LL com ss não se demonstra significância ($\chi^2=0,16$ ns). Dividindo a questão em sexo masculino e feminino também não se observa significância, para nenhum dos dois ($\chi^2=0,36$ ns para ambos). Portanto, este resultado sugere que o gene s poderá eventualmente potenciar uma tendência ao uso de métodos violentos, independentemente do sexo.

i) Alelo L*

A inferência estatística para eventuais associações fenotípicas com o novo alelo L* é praticamente inviável, dado o reduzido número de casos (6 L*s e 2 LL*), e também a ausência de homozigóticos.

Em relação à banda intermédia detetada, denominada de L*, não se observa qualquer associação entre este alelo e o carácter violento ($\chi^2=0,01$ ns, inclui valores esperados <5) ou de elevada letalidade ($\chi^2=0,10$ ns, inclui valores esperados <5) da(s) tentativa(s) de suicídio.

A presença do alelo L* é independente entre casos e controlos, quer segundo critério ato, quer segundo o critério ideação (grupo A vs. grupo B+C $\chi^2=5 \times 10^{-3}$ ns e grupo A+B

vs. grupo C $\chi^2=0,10$ ns, respetivamente), assim como é independente do sexo ($\chi^2=0,01$ ns e $\chi^2=0,02$ ns, respetivamente), porém, os indivíduos do sexo masculino que possuem o alelo são quase todos indivíduos que nunca pensaram nem tentaram suicidar-se (grupo C, 3 em 4 indivíduos) e no sexo feminino ocorre o contrário, todas elas (n=4) já pensaram e/ou tentaram suicidar-se (grupo A+B). Numa amostra maior poder-se-ia investigar se tal banda poderia ser um fator de proteção para os homens ou mesmo de predisposição para as mulheres.

O alelo L* é também independente da história familiar de suicídio, considerando quer o critério ato quer o critério ideação, tanto nos casos ($\chi^2=0,01$ ns grupo A e $\chi^2=0,33$ ns grupo A+B, respetivamente) como nos controlos ($\chi^2=0,13$ ns grupo B+C e $\chi^2=0,02$ ns grupo C, respetivamente) [para todos eles incluem-se valores esperados <5]; assim como é independente da presença de depressão ou ausência de patologia também para ambos os critérios, em casos ($\chi^2=0,05$ ns grupo A e $\chi^2=0,06$ ns grupo A+B, respetivamente) e em controlos ($\chi^2=0,16$ ns grupo B+C e $\chi^2=0,44$ ns grupo C). Contudo, esta ausência de significância pode dever-se essencialmente ao tamanho reduzido da amostra a possuir este alelo, parecendo haver uma sugestão para a ligação da banda intermédia com a depressão e a ligação aos indivíduos que já pensaram e/ou tentaram suicidar-se, pois neste grupo de indivíduos, 4 deles possuem depressão e apenas 1 deles não possui patologia psiquiátrica, pelo que uma amostra maior poderia confirmar esta tendência.

A presença do alelo L* também se mostrou independente relativamente à existência de adversidades na infância, para ambos os critérios, tanto nos casos ($\chi^2=0,03$ ns grupo A e $\chi^2=2,4 \times 10^{-3}$ ns grupo A+B, critério ato e critério ideação, respetivamente) como nos controlos ($\chi^2=5,4 \times 10^{-3}$ ns grupo B+C e $\chi^2=0,31$ ns grupo C, respetivamente), porém, quando consideramos o critério ato, parece haver uma tendência, nestes indivíduos que possuem alelo L* a, quando já tentaram suicidar-se terem passado por adversidades na infância (em 4 indivíduos que já tentaram suicidar-se, 3 possuem L* e passaram por adversidades na infância) e quando nunca o tentaram não terem passado por adversidades na infância (em 4 indivíduos que nunca tentaram suicidar-se, 3 possuem L* mas nunca passaram por adversidades na infância).

1) L*=s (classificação funcional)

Foi explicado na Revisão Bibliográfica que embora a maioria dos trabalhos analise o 5-HTTLPR na forma bialélica (considerando apenas o alelo L e o alelo s), existe um SNP (A22G) que produz as variantes L_A e L_G, em que, funcionalmente falando, o L_A se comporta como L (transcrição muito eficiente), enquanto o L_G é equivalente ao s. Assim, a análise estatística que foi feita até agora considerou a classificação bialélica, incluindo L* no grupo dos L, porém, a análise estatística foi repetida considerando a classificação funcional e, portanto, incluindo L* no grupo dos s.

Após ter sido realizada esta análise houve apenas quatro resultados que passaram a ser significativos, dizendo estes respeito à ANOVA bifatorial (critério ideação) que se realizou entre genótipo e adversidades para o valor de TQIS. Os valores que passaram a ser significativos dizem respeito à componente genótipo e componente interação, quando comparando os 3 genótipos (passando de $F_{2;52}=1,07$ ns para $F_{2;52}=5,88^{**}$, para o genótipo e de $F_{2;52}=1,13$ ns para $F_{2;52}=6,56^{**}$, para a interação) e quando comparando LL com Ls+ss (passando de $F_{1;52}=1,55$ ns para $F_{1;52}=8,62^{**}$, para o genótipo e de $F_{1;52}=0,23$ ns para $F_{1;52}=4,45^{*}$, para a interação) (tabelas A39 e A40). Tais mudanças serão discutidas no capítulo da Discussão.

Outro resultado que se tornou mais contrastante foi a associação das adversidades com casos e controlos (critério ideação), em homozigóticos (LL+ss), que passou de $\chi^2=1,49$, $P=0,22$ para $\chi^2=3,68$ $P=0,06$ (tabela A41).

Já o contrário, resultados que perderam significância, observou-se em comparações de genótipos quer para o valor de TQIS, quer para a associação com a situação profissional. Ainda referente à ANOVA bifatorial (critério ato) que se realizou entre genótipo e adversidades para o valor de TQIS, ao comparar LL com Ls o genótipo deixou de ser significativo, passando de $F_{1;30}=6,24^{*}$ para $F_{1;27}=2,43$ ns e também comparando LL com Ls+ss, em que o genótipo, quando a componente de interação é incluída no resíduo, perdeu significância, passando de $F_{1;33}=4,34^{*}$ para $F_{1;33}=2,47$ ns (tabelas A42 e A43). No teste de comparação de médias (teste t) do valor de TQIS, comparando o genótipo Ls com LL+ss, para o grupo A (critério ato), passou-se de $t_{34}=2,39^{*}$ para $t_{34}=1,24$ ns (tabela A44);

outras estatísticas que eram quase significativas na comparação de Ls com os homozigóticos (TQIS, critério ideação; idem, com adversidades; e ainda TQIS, critério ato, com adversidades) tornaram-se claramente não significativas (tabela A45). Na comparação entre casos e controlos, critério ideação (A+B vs. C), a influência de trabalhar nas mulheres Ls passou de $\chi^2=5,32^*$ para $\chi^2=3,31$, $P=0,07$, e nas mulheres portadores do alelo L (LL+Ls) passou de $\chi^2=9,43^{**}$ para $\chi^2=5,91^*$ (tabela A46); e na associação com a situação profissional entre as mulheres caso e toda a restante amostra, tudo do genótipo Ls (critério ideação), passou-se de $\chi^2=5,72^*$ para $\chi^2=3,13$, $P=0,08$ (tabela A47), enquanto nos portadores do alelo L (LL+Ls, critério ato), passou-se de $\chi^2=3,74$, $P=0,05$ para $\chi^2=0,82$, $P=0,36$ (tabela A48).

DISCUSSÃO

Vários autores consideram o comportamento suicida como um *continuum* fenotípico (desde a ideação suicida sem cometer nenhum ato até ao suicídio completo, passando pelo suicídio apenas na forma tentada, com maior ou menor número de tentativas) ² (apud. Nock et al., 2008)⁵⁷ mas e se na realidade constituem grupos distintos, sem continuidade entre si (apud. Nock et al., 2008)⁵⁴?

Neste estudo optou-se por se considerarem 3 grupos, A, B e C, de modo a distinguir estas diferentes “classes” de comportamento suicida, baseadas em critérios robustos, independentemente de considerá-las ou não parte de um único continuum: A, tentativa de suicídio (ato), B, ideação suicida (sem ato), C, sem ideação (nem ato) suicida. Para as comparações realizadas, serviram 2 critérios – num deles separaram-se os indivíduos com tentativa de suicídio dos restantes (A vs. B+C, critério ato) e no outro juntaram-se os indivíduos com tentativa de suicídio e ideação suicida e compararam-se com os restantes (A+B vs. C, critério ideação).

Baseado nos valores dos scores QIS nos grupos A, B e C, o teste U de Mann-Whitney apoia qualquer um dos critérios de agrupamento de casos e controlos, comprovando-se que o grupo A+B diferia de C, assim como A diferia de B+C. Contudo, a observação das distribuições (figura 6) e a comparação das médias (da variável TQIS) entre B e A e entre B e C favorece uma maior homogeneidade entre A e B, ou seja, o seu agrupamento para formarem o grupo caso.

Contudo, faz-se uma ressalva para o facto destas distribuições poderem não ser as mais corretas, isto porque nesta amostra, a maioria dos indivíduos encontrava-se sob tratamento medicamentoso para patologia psiquiátrica e a toma de medicação poderá alterar ou não os scores de QIS.^{96 97}

Uma vez que se está a falar no QIS, torna-se pertinente explicar que este é um questionário que se torna um pouco “pesado”, na medida em que é longo e a formulação das perguntas facilmente fragiliza o inquirido, principalmente se tiver ideação suicida. Mas há que enfatizar a importância dos resultados deste questionário para o presente estudo.

Apresentam-se de seguida os resultados que, surgem estatisticamente significativos para um critério de agrupamento mas não para outro critério, para cada teste.

Para o critério ato observa-se significância estatística relativamente aos indivíduos sem adversidades possuírem scores de QIS mais elevados quando existe história familiar de suicídio, enquanto para o critério ideação tal não acontece. Parece que, existindo história familiar de suicídio, mesmo não estando presentes adversidades na infância, a tendência à ideação suicida é maior do que nos casos em que não existe história familiar de suicídio. Tal poderá acontecer devido à questão destes indivíduos terem um exemplo prévio na família, exemplo esse que face a pensamentos suicidas os poderá incitar a partir para o ato em si. Este resultado corresponde ao que é descrito na literatura: que parece haver um risco para o suicídio maior para parentes de suicidas quando comparadas com a restante população.^{2 10 11 41 67} Embora também seja dito que, quando se trata de possuir familiares apenas com ideação suicida o risco não parece aumentar¹⁰, o que ajuda a sustentar a ideia de que é o facto de ter um exemplo concreto na família que poderá potenciar esse risco.

Outra associação que se encontrou para o critério ato mas não para o critério ideação diz respeito à ANOVA bifatorial entre genótipo e adversidades para o valor de TQIS. Seguindo o critério ideação observa-se significância apenas para as adversidades, mas seguindo o critério ato conseguimos valores significativos (LL vs. Ls) e outros quase significativos (LL vs. Ls+ss e comparando os 3 genótipos ao juntar a componente interação ao resíduo) para o genótipo. Tais resultados surgem devido ao valor médio de TQIS dos LL ser significativamente mais baixo quer dos Ls quer dos ss. Tal poderá sugerir que talvez o genótipo possa mediar uma certa influência sobre o comportamento suicida mas apenas quando consideramos as tentativas de suicídio propriamente ditas, e não quando se consideram as tentativas de suicídio em conjunto com a ideação. Porém a reduzida dimensão da amostra não permite que se façam especulações desta envergadura.

O facto de haver mais mulheres do que homens com filhos é uma tendência global que se reflete tanto no grupo caso para o critério ideação (A+B) como para o grupo controlo para o critério ato (B+C), não se atribuindo a esta associação qualquer significado relevante.

Com significância para o critério ideação mas não para o critério ato, surge ainda o resultado de que para o grupo caso (A+B) a maioria das mulheres se encontra inativa (desempregada/de baixa/reformada) enquanto a maioria dos homens se encontra ativa (a trabalhar seja de dia, noite ou por turnos), observando-se ainda resultados no mesmo

sentido em cada um dos genótipos. Isto denota de forma clara como os diferentes sexos sofrem de diferentes formas no que diz respeito à situação profissional em que se encontram. O que vemos aqui, é que, para as mulheres, o facto de não estar a trabalhar parece afetá-las de forma negativa no que diz respeito à suscetibilidade ao comportamento suicida. Enquanto para os homens se observa precisamente o oposto; é o facto de trabalharem que parece potenciar quer a ideação, quer o comportamento suicida; porém, há autores que defendem que o desemprego promove um aumento do risco para o comportamento suicida em especial nos homens (apud. Platt & Hawton 2002)⁶⁸. Além disso, os casos com genótipo LL surgem com um score de TQIS mais elevado nos homens comparativamente às mulheres, apenas no critério ideação. Este resultado poderá ou não ser paralelo ao de Haberstick et al. (2016), onde a ideação suicida é máxima em homens LL com o número máximo de eventos stressantes no passado.⁸¹

ENVIESAMENTO NA AMOSTRA

É essencial lembrar que neste tipo de estudos surgem por vezes certos enviesamentos, pelo que é necessário ter esta questão em conta, evitando fazer certas interpretações erradamente. No caso deste estudo, verificou-se inicialmente que a proporção de indivíduos controlo (grupo C) do sexo masculino com um score de QIS igual a zero era significativamente maior que dos indivíduos do sexo feminino, resultando isto na não normalidade exibida na subpopulação C que se viu anteriormente, e assim, colocou-se desde logo a questão de poder existir um enviesamento devido a respostas pretensamente negativas daqueles, colocando assim em causa todas as comparações feitas entre sexos, no grupo controlo. Mais tarde conseguiu mesmo identificar-se de onde poderia ter surgido esse enviesamento, parecendo então que o mesmo se deveu aos indivíduos do sexo masculino com escolaridade abaixo do 7º ano, o que poderá sugerir que este subgrupo, face à sua mais baixa escolaridade, evidenciam menor grau de alerta e de vontade de refletir perante o questionário, até em comparação com mulheres com o mesmo nível de escolaridade, levando-os assim a pontuar um score de 0 no QIS. Pelo contrário, uma escolaridade mais elevada nivela os dois sexos e sugere deixar de ter de considerar-se um enviesamento dos scores.

Em suma, apesar de se ter visto que tanto o critério ato como o critério ideação foram validados estatisticamente, o critério ideação parece, pelas razões e resultados

apresentados acima, o mais plausível, isto é, os casos são constituídos por indivíduos com ideação suicida, independentemente de terem ou não tentado o suicídio. Contudo, considerando a questão que se colocou anteriormente, acerca da existência ou não de um *continuum*, observando a figura 6, esta apoia esse conceito, na medida em que se denota uma certa gradação de A para B e de B para C. Adicionalmente, a minha experiência pessoal com a amostra deste estudo, leva-me a crer que esse conceito tem a sua razão de ser, nomeadamente porque muitos dos indivíduos com quem falei e que pertenciam ao grupo B deverão acabar por cometer uma tentativa de suicídio no futuro. E, além disso, é ainda de lembrar que, segundo alguns autores, há estudos que sugerem que tanto os suicídios consumados como as tentativas de suicídio têm uma base genética comum.^{2 6 9 10}

Quanto ao enviesamento, uma vez que este parece ter sido então provocado por indivíduos do sexo masculino com escolaridade inferior ao 7º ano, será de ter em consideração que as comparações realizadas que incluam estes mesmo indivíduos, deverão ser interpretadas com cautela.

EFEITO DO GENÓTIPO SOBRE O SCORE DE QIS (direto ou indireto)

É possível interpretar a questão da influência do genótipo sobre o score de QIS, relativamente aos casos, de duas formas. Por um lado, poderá existir um efeito direto do genótipo sobre o QIS, e assim, o genótipo com a média de TQIS mais elevada seria um fator de aumento do score de QIS, promovendo desse modo um aumento da probabilidade do indivíduo se pensar em suicidar. Por exemplo, se considerarmos o critério ideação (A+B vs. C) e apenas os indivíduos que não passaram por adversidades, é no genótipo ss que se observa a média de TQIS mais elevada (LL- 1,35, Ls- 1,52, ss- 1,65), pelo que, de acordo com esta interpretação, o genótipo ss, em indivíduos que não tivessem passado por adversidades na infância, poderia aumentar o risco de pensar ou tentar suicidar-se face aos indivíduos com os outros genótipos.

Contudo podemos olhar para este assunto de um outro prisma e, conseqüentemente, uma interpretação em sentido oposto. Ao contrário do que se descreveu, poderia existir um efeito indireto do genótipo, em que, uma vez que se está a ter em conta indivíduos do grupo caso, uma tendência para scores de QIS mais baixos indicaria uma maior facilidade de conversão ao comportamento suicida, ao passo que uma tendência mais alta indicaria o requisito de

“algo mais” para além do genótipo, para essa conversão. Considerando o exemplo anterior, observou-se que a média de TQIS mais baixa se encontra nos indivíduos portadores do genótipo LL, pelo que, segundo esta, este genótipo indica uma maior facilidade de conversão ao comportamento suicida. Ao passo que, por exemplo, os indivíduos com genótipo ss (que segundo a primeira interpretação teriam maior probabilidade de se converter ao comportamento suicida) poderiam necessitar de outros fatores a influenciar, daí só se tornarem parte do grupo caso quando o seu score de QIS é mais elevado, sugerindo-se assim um efeito protetor por parte deste genótipo.

Quando se trata de examinar interações genótipo-ambiente, como é o exemplo que acaba de se dar, a dimensão da amostra torna-se crítica, tendo em conta a distribuição da amostra por vários genótipos. Com esta ressalva em mente, e com a limitada amostragem do presente estudo, irá ainda assim tentar-se uma análise que permita interpretar o papel dos genótipos 5-HTTLPR na ideação e ato suicidas.

GENÓTIPO E O TQIS

Tendo em conta a amostra no seu todo, observa-se que quanto mais genes s menor é a média de TQIS, embora não seja significativo e pareça refletir uma média dos casos e dos controlos, pois para cada subgrupo observam-se tendências noutro sentido. Assim, ao considerarmos os casos, o valor de TQIS surge mais elevado nos indivíduos heterozigóticos Ls (vs homozigóticos LL+ss), considerando quer um ou outro critério de agrupamento (só significativo no critério ato embora quase significativo no critério ideação). Este resultado pode servir para exemplificar a aplicação da segunda interpretação exposta acima: os indivíduos homozigóticos (LL+ss), comparativamente aos heterozigóticos Ls, poderão não necessitar de scores de QIS tão elevados para que venham a ter pensamentos suicidas ou para que venham a realizar tentativas de suicídio.

Ao considerarmos apenas o grupo B (com ideação suicida mas sem terem tentado o suicídio), o que se observa é uma grande semelhança nas médias do TQIS entre os 3 genótipos, o que nos leva a pensar que os eventuais efeitos genotípicos se expressam sobretudo dentro dos subgrupos A (com tentativa de suicídio) e C (sem ideação suicida): LL- 1,49, Ls- 1,82, ss- 1,61 em A e LL-0,88, Ls- 0,47, ss- 0,46 em C. Infelizmente, a dimensão da amostra é muito reduzida para serem estatisticamente significativos.

Quando se coloca a questão de existirem ou não diferenças entre sexos relativamente a este assunto, destaca-se no grupo caso o valor médio de TQIS ser mais baixo em homens LL que nas mulheres LL (significativamente apenas no critério ideação), o que não sucede nos outros genótipos. Assim, segundo uma interpretação, o genótipo LL nos homens não contribui para a ideação suicida, na outra interpretação esse genótipo protege-os menos de evoluírem para a ideação suicida.

GENÓTIPO, ADVERSIDADES e TQIS

Enquanto nos presentes dados é clara a influência das adversidades na infância sobre os valores TQIS e sobre a ideação ou ato suicidas, já é menos clara a interação deste fator com o genótipo analisado. A análise dos valores médios de TQIS em função dos genótipos e da existência de adversidades (tabela 11) evidenciou um score particularmente elevado em controlos (critério ideação, grupo C) com o genótipo LL sem adversidades (embora com n = 4).

Considerando apenas o grupo caso, a partir da análise da ANOVA bifatorial conseguiu demonstrar-se, para todas as comparações realizadas (comparando os 3 genótipos, comparando LL com Ls e comparando LL com Ls+ss), um efeito significativo para a presença de adversidades na infância, quer considerando o critério ato (grupo A), quer o ideação (grupo A+B). Além disso, conseguiu observar-se um efeito significativo para o genótipo ao comparar LL com Ls (grupo A, critério ato), em que, existindo ou não adversidades, o genótipo Ls apresenta sempre valores médios de TQIS mais elevados, observando-se quase significância no mesmo sentido ao comparar LL com Ls+ss.

Seria interessante continuar a analisar estas possíveis associações com amostras de maiores dimensões.

COMPARAÇÃO COM A LITERATURA

De modo a facilitar a comparação entre os resultados obtidos neste estudo e os resultados apresentados na literatura, foi realizada uma tabela (tabela 12), apresentada de seguida.

Tabela 12 – Resumo comparativo dos resultados do presente estudo com a literatura, estruturado por cada fator estudado hipoteticamente causal do comportamento suicida.¹

| FATOR | ESTUDO | LITERATURA |
|---|---|---|
| i) Sexo | - O sexo parece ser independente tanto das tentativas de suicídio (grupo A vs. B+C) como das tentativas e ideação suicida (grupo A+B vs. C), embora ao juntarmos estas duas situações a estatística se aproxime muito mais da significância, com as mulheres a tenderem mais para as tentativas e ideação suicida | - Ser mulher é um fator de risco para o comportamento suicida ³⁰ |
| ii) Associação entre doenças psiquiátricas e comportamento suicida | <p>- Associação tanto de tentativas de suicídio como ideação suicida com a presença de patologia psiquiátrica, independentemente de qual seja</p> <p>- Associação tanto de tentativas de suicídio como ideação suicida com a presença de depressão concretamente</p> | <p>- 90% de todos os suicídios ocorre num contexto de distúrbio psiquiátrico ^{34 41 57 67 77}</p> <p>- A depressão major é o distúrbio psiquiátrico mais comum no comportamento suicida, estando presente em 40 a 60% dos casos ^{2 9 10 11 16 67 77}</p> <p>- Indivíduos diagnosticados com depressão ou ansiedade apresentaram níveis de ideação suicida significativamente superiores aos outros, não se observando diferenças entre a depressão e a ansiedade. ⁷⁷</p> |

¹ Legenda das cores da tabela:

Resultados da literatura não concordantes com este estudo

Resultados da literatura concordantes com este estudo

Resultado deste estudo parece ser uma novidade

| | | | |
|------|---|---|--|
| iii) | Relação entre o sexo e a violência da tentativa | <p>- Na amostra, 66,7% das tentativas de suicídio violentas foram cometidas por homens</p> <p>- Nas mulheres apenas 22,7% realizaram uma tentativa de suicídio violenta ao passo que nos homens houve 76,9% destes a fazê-lo</p> | <p>- Numa amostra com indivíduos brasileiros deprimidos, 70,5% das tentativas de suicídio violentas tinha sido cometidas por homens ⁵</p> |
| iv) | Ser casado/união de facto | <p>- A maioria dos indivíduos sem tentativa e sem ideação suicida é casado/união de facto (63,6%)</p> <p>- Existem mais indivíduos casados/união de facto que nunca tentaram suicidar-se (grupo B+C) do que aqueles que já tentaram (61% vs. 44%), embora não seja significativo</p> <p>- Existem mais indivíduos casados/união de facto que nunca pensaram em suicidar-se (grupo C) do que aqueles que já tentaram ou já pensaram (grupo A+B) (65% vs. 47%), embora não seja significativo</p> <p>- As diferenças são semelhantes nos dois sexos</p> | <p>- Avaliando pessoas após uma tentativa de suicídio observou-se que a maioria (53,6%) era casada. ⁵</p> <p>- Avaliando suicídios completos a maioria deles (54,5%) tinha ocorrido em pessoas casadas. ²⁰</p> <p>- Ser casado é um fator de proteção para os homens (apud. Oquendo et al., 2007)², (apud. Balint et al., 2016) ⁶⁸</p> <p>- Não foram observadas diferenças no valores de QIS entre solteiros e casados. ⁷⁷</p> |
| v) | Ser solteiro/divorciado/viúvo | <p>- A maioria dos indivíduos que tentou suicidar-se era solteiro/divorciado/viúvo (55,6%)</p> <p>- Existem mais indivíduos solteiros/divorciados/viúvos que já tentaram suicidar-se (grupo A) do que aqueles que nunca tentaram (grupo B+C) (56% vs. 39%), embora não seja significativo</p> <p>- Existem mais indivíduos solteiros/divorciados/viúvos que já tentaram ou já pensaram suicidar-se (grupo A+B)</p> | <p>- Risco para o comportamento suicida ³⁰</p> <p>- Segundo a Teoria de Integração Social do Suicídio (apud. Durkheim, 1897/1951) pessoas solteiras/divorciadas teriam menos contacto com outros membros da sociedade, sentindo-se mais excluídos, facilitando assim o comportamento suicida ⁵⁸</p> |

| | | |
|---|--|--|
| | do que aqueles que nunca pensaram nisso (grupo C) (53% vs. 35%), embora não seja significativo | |
| vi) Ter filhos | <ul style="list-style-type: none"> - A presença de pensamento ou comportamento suicida parece ser independente da existência de filhos - No grupo de pessoas que já tentaram e já pensaram em suicidar-se (grupo A+B), a proporção dos que têm filhos é maior nas mulheres que nos homens, apesar de refletir a tendência global - Nos indivíduos com filhos, a proporção dos que tentaram o suicídio é igual entre os dois sexos (43%); mas nas restantes mulheres há uma maior proporção com ideação suicida que nos homens (42% vs. 17%) | <ul style="list-style-type: none"> - Não ter filhos parece aumentar o risco de suicídio em 4x ⁶⁷ - Ter um filho com menos de 2 anos constitui um fator de proteção para as mulheres (apud. Oquendo et al., 2007) ² - Mulheres casadas com filhos têm um risco mais baixo de suicídio do que as que não têm filhos (apud. Hoyer et al., 1993) ⁶⁸ |
| vii) Relação entre o emprego e o comportamento suicida | <ul style="list-style-type: none"> - Observa-se independência entre o comportamento suicida e a situação laboral - Observa-se uma maior proporção de mulheres inativas (desemprego/baixa reforma) e uma maior proporção de homens ativos (trabalho diurno/noturno) tanto ao considerar-se os indivíduos com tentativa de suicídio vs. os restantes (grupo A vs. grupo B+C) (P=0,06), e sobretudo considerando os indivíduos com tentativa ou ideação suicida vs. os outros (grupo A+B vs. C) (P<0,05) | <ul style="list-style-type: none"> - Um estudo de suicidas (em cadáveres) descobriu que os que estavam empregados eram o maior subgrupo (46,7%), seguindo-se os reformados (37,8%) ²⁰ - Não se demonstra haver uma relação entre o suicídio e a situação profissional (46,4% empregados e 42,9% desempregados) ⁵ - Risco aumentado para o comportamento suicida entre desempregados (apud. Platt & Hawton, 2002), principalmente em homens ⁶⁸ - Score de QIS superior nos desempregados relativamente aos empregados. ⁷⁷ |

| | | | |
|-------|--|--|--|
| viii) | Relação das adversidades com a ideação ou tentativa | <p>- As adversidades na infância tendem a estar associadas aos indivíduos com tentativa de suicídio ou ideação suicida (grupo A+B), mas não significativamente, incluindo para cada sexo separadamente</p> <p>- Não há diferenças entre os grupos A e B</p> <p>- Parece haver uma associação entre as adversidades na infância e as tentativas de suicídio nas mulheres</p> <p>(P=0,06).</p> | <p>- Parece ser significativamente mais provável pessoas que já tentaram suicidar-se terem experienciado adversidades, comparativamente com pessoas apenas com ideação suicida (apud. King et al., 2001; Fairweather et al., 2006 e Liu & Tein, 2005) ⁵³</p> <p>- Parece haver uma relação entre as adversidades e a ideação suicida mas especificamente em rapazes (apud. Rohde et al., 1997) ⁵⁴</p> <p>- Numa meta-análise 9 estudos não observaram relação entre as adversidades e a ideação suicida, porém, 32 estudos relacionaram positivamente as adversidades com as tentativas de suicídio (apud. Liu et al., 2014) ⁵⁴</p> <p>- O risco de cometer uma tentativa de suicídio é 8x maior nos indivíduos que experienciaram adversidades (apud. Bhatta et al., 2014) ⁵³</p> <p>- Um estudo encontrou uma ausência de relação entre eventos traumáticos e o suicídio (apud. Taylor et al., 2005) ⁵⁴</p> |
| ix) | Relação das adversidades com a letalidade da tentativa | <p>- Parece haver uma relação entre a presença de adversidades na infância e as tentativas de suicídio com letalidade elevada (P=0,19), especialmente nas mulheres (P=0,09).</p> | N.A. ^m |

^m N.A. – Não existe ou não se possui informação em relação a esta questão

| | | | |
|-------|--|---|---|
| x) | Relação das adversidades com a violência da tentativa | - Não se observa uma relação entre a presença de adversidades na infância e a violência da tentativa de suicídio, quer globalmente, quer para cada um dos sexos | N.A. |
| xi) | Relação da idade com a letalidade da tentativa | - As tentativas de suicídio com letalidade mais elevada surgem associadas a idades mais elevadas ($P < 0,05$), tanto nos homens ($P = 0,09$) como nas mulheres ($P = 0,16$) | - Nota-se uma associação entre idades mais elevadas e tentativas de suicídio mais letais ¹⁸ |
| xii) | Relação da escolaridade com o comportamento suicida | <p>- Níveis de escolaridade abaixo do ensino superior parecem estar associados ao comportamento suicida (tentativa e ideação suicida) ($P = 0,27$).</p> <p>- Analisando por sexo, a influência da escolaridade sobre o comportamento suicida é mais evidente nas mulheres ($P = 0,07$) mas não nos homens</p> | <p>- Numa revisão de 31 estudos (Ásia) revelaram que a baixa educação é um dos fatores com maior associação com o comportamento suicida (apud. Knipe et al., 2015) ⁶⁸</p> <p>- Níveis de escolaridade mais elevados estão associados a um menor risco de suicídio (Japão e Hungria) (apud. Kimura et al., 2016; Bálint et al., 2016) ⁶⁸</p> <p>- Num estudo realizado em Portugal, comparando os níveis de ideação suicida entre estudantes universitários e não universitários, observaram que os níveis mais elevados de ideação suicida se encontram na população não universitária, demonstrando ainda que quanto menor o grau de escolaridade maior é a ideação suicida. ⁷⁷</p> |
| xiii) | Relação entre história familiar de suicídio e o comportamento suicida | - Embora a história familiar de suicídio seja mais frequente em indivíduos com tentativa de suicídio ou com ideação, não existe significância estatística | - Brent et al. ¹⁰ concluíram que o risco de suicídio é maior em pessoas com familiares que se suicidaram, ou tentaram |

| | | | |
|-------|---|---|---|
| xiv) | Relação entre a associação da história familiar de suicídio com as adversidades na infância e o comportamento suicida | <ul style="list-style-type: none"> - A ausência de história familiar de suicídio e adversidades na infância parece estar associada ao conjunto de indivíduos que nunca tentaram nem pensaram suicidar-se ($P=0,11$) ou apenas aos que nunca pensaram suicidar-se ($P=0,08$) - A presença de história familiar de suicídio e adversidades na infância parece estar associada a indivíduos que já tentaram suicidar-se ($P=0,26$) e ainda mais ao conjunto de indivíduos que já tentaram e já pensaram suicidar-se ($P=0,11$) | N.A. |
| xv) | Relação entre a cor do cabelo , dos olhos e pele com o comportamento suicida | <ul style="list-style-type: none"> - A cor do cabelo, olhos e pele é independente do pensamento e do comportamento suicida | N.A. |
| xvi) | Genótipo 5-HTTLPR e o comportamento suicida: geral | <ul style="list-style-type: none"> - O comportamento suicida parece ser independente do genótipo 5-HTTLPR - Seja para o sexo masculino ou para o sexo feminino observa-se igualmente independência | <ul style="list-style-type: none"> - Vários estudos aparentemente não mostram associação do 5-HTTLPR e o suicídio ^{33 60}, quer ao nível do suicídio completo (apud. Mann et al., 2000) ³³ quer das tentativas de suicídio (apud. Geijer et al., 2000) ³³ |
| xvii) | Genótipo 5-HTTLPR e o comportamento suicida: associação com s | <ul style="list-style-type: none"> - O comportamento suicida parece ser independente dos genótipos contendo o alelo s (ss+Ls) | <ul style="list-style-type: none"> - Predominância de indivíduos com genótipo contendo o alelo s (Ls ou ss) em suicídios completos (apud. Bondy et al., 2000) ³³ - Risco aumentado para o comportamento suicida em indivíduos portadores do alelo s (Ls ou ss) ^{2 5} - Associação entre o alelo s e as tentativas de suicídio femininas, mas não com as masculinas |

| | | |
|--------|---|--|
| | | (apud. Baca-Garcia et al., 2002 ⁶) ³³ - Numa meta-análise (apud. Lin & Tsai, 2004) ⁶ não foi encontrada associação entre o 5-HTTLPR e o comportamento suicida quando comparado com indivíduos controlo normais. Porém, quando analisadas pessoas com o mesmo diagnóstico psiquiátrico, portadores do alelo s foram significativamente mais frequentes em pessoas que tentaram o suicídio - Uma meta-análise (N=2539) realizada por Anguelova et al. (2003) apontou uma associação entre o alelo s e as tentativas de suicídio. ⁷⁸ |
| xviii) | Genótipo 5-HTTLPR e o comportamento suicida: associação com L | - O comportamento suicida parece ser independente dos genótipos contendo o alelo L (LL+Ls) - Frequência mais elevada do alelo L em vítimas de suicídio deprimidas comparativamente com indivíduos controlo não suicidas (apud. Du et al., 1999; Faludi et al, 2000) ⁶ |
| xix) | Genótipo 5-HTTLPR, o comportamento suicida e adversidades | - Não se observa significância estatística que permita associar quer a ideação quer o comportamento suicida, com os genótipos contendo o alelo s (Ls+ss) e as adversidades na infância, porém, existem contrastes sugestivos de que o alelo s associado a pelo menos uma adversidade na infância, poderá contribuir para o comportamento suicida (critério ato, P=0,08, 62% grupo A vs. 37% grupo B+C; critério ideação P=0,22, 54% vs. 36%) - Entre sexos ou apenas no sexo masculino observa-se igualmente independência, mas para o sexo feminino observa-se um contraste |
| | | N.A. |

| | | | |
|-------|---|--|---|
| | | sugestivo de associação com o alelo s, critério ato (P=0,15, 67% grupo A vs. 39% grupo B+C) | |
| | | - Considerando genótipos contendo o alelo L (LL+Ls) observa-se independência, embora para o sexo feminino surja um contraste nos indivíduos que tentaram o suicídio e passaram por pelo menos uma adversidade (P=0,20, 70% grupo A vs. 45% grupo B+C) | N.A. |
| xx) | Genótipo 5-HTTLPR, comportamento suicida e história familiar de suicídio | - Independência entre o comportamento suicida, a história familiar de suicídio e o genótipo | - Associação da homozigotia s com a presença de história familiar de suicídio (apud. Joiner et al., 2002) ⁶ |
| xxi) | Genótipo 5-HTTLPR, comportamento suicida e letalidade da tentativa | <p>- Independência entre os genótipos contendo o alelo s (Ls+ss) e a letalidade das tentativas de suicídio</p> <p>- A heterozigotia Ls surge com maior frequência nas tentativas de suicídio mais letais quando comparada com os homozigóticos (65% vs. 44% LL e 40% ss), porém, não se observa significância – esta tendência parece dever-se ao que se observa nos homens, pois 83% dos homens Ls realizaram uma tentativa de suicídio de letalidade alta</p> | - Predominância de indivíduos com genótipo contendo o alelo s (Ls+ss) em tentativas de suicídio mais letais (apud. Gorwood et al., 2000) ³³ |
| xxii) | Genótipo 5-HTTLPR, comportamento suicida e violência da | - Com o aumento do número de genes s (de LL para Ls e para ss) parece haver um aumento da percentagem de indivíduos com tentativas de suicídio violentas (33% em LL e 60% em ss), porém, não se demonstra significância | - Associação entre genótipos contendo o alelo s (Ls ou ss) e tentativas de suicídio violentas (apud. Bayle et al., 2003; Bellivier et al., 2000; Bondy et al., 2000; Courtet et al., 2001; Gorwood et al., 2000; Lin & Tsai, 2004) ⁶ |

| | | |
|--|--|---|
| tentativa | estatística comparando o genótipo LL com o ss | |
| | - Dentro de cada sexo também não se observa significância estatística | |
| xxiii) Frequências alélicas/genotípicas | <ul style="list-style-type: none"> - Frequência do alelo s: 48,9% <ul style="list-style-type: none"> - Casos (critério ato): 43,1% - Controlos (critério ato): 52,9% - Casos (critério ideação): 45,3% - Controlos (critério ideação): 54,4% - Frequência do alelo L: 46,6% <ul style="list-style-type: none"> - Casos (critério ato): 51,4% - Controlos (critério ato): 43,1% - Casos (critério ideação): 50% - Controlos (critério ideação): 41,2% - Frequência do alelo L+L*: 51,1% <ul style="list-style-type: none"> - Casos (critério ato): 56,9% - Controlos (critério ato): 47,1% - Casos (critério ideação): 54,7% - Controlos (critério ideação): 45,6% | <ul style="list-style-type: none"> - Frequência do alelo s em caucasianos: 39%³⁵ - Frequência do alelo s (Nova Zelândia): 43%^{38 66} - Frequência do alelo s em controlos (caucasianos): 43%⁶ - Frequência do alelo s (caucasianos): 43%⁷⁹ - Frequência do alelo s em vítimas de suicídio (Turquia): 57,7%⁴ - Frequência do alelo s em controlos (Turquia): 35%⁴ - Frequência do alelo L (Nova Zelândia): 57%^{38 66} - Frequência do alelo L em vítimas de suicídio (Turquia): 42,3%⁴ - Frequência do alelo L em controlos (Turquia): 65%⁴ - Frequência do genótipo ss (caucasianos): 21,6-28,3% (e 55,6-60% em asiáticos)⁶³ - Frequência do genótipo ss (caucasianos): 23,6%⁸¹ - Frequência do genótipo ss (Nova Zelândia): 17%³⁸ - Frequência do genótipo ss (Georgia – afro-americanos): 6,4%⁷⁶ |

| | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> - Frequência do genótipo ss: 20,7% <ul style="list-style-type: none"> - Casos (critério ato): 13,9% - Controlos (critério ato): 25,5% - Casos (critério ideação): 17% - Controlos (critério ideação): 26,5% - Frequência do genótipo LL: 20,7% <ul style="list-style-type: none"> - Casos (critério ato): 25% - Controlos (critério ato): 17,6% - Casos (critério ideação): 22,6% - Controlos (critério ideação): 17,6% - Frequência do genótipo LL+LL*: 23% <ul style="list-style-type: none"> - Casos (critério ato): 27,8% - Controlos (critério ato): 19,6% - Casos (critério ideação): 26,4% - Controlos (critério ideação): 17,6% - Frequência do genótipo Ls: 49,4% <ul style="list-style-type: none"> - Casos (critério ato): 50% - Controlos (critério ato): 49% | <ul style="list-style-type: none"> - Frequência do genótipo ss (Brasil – Porto Alegre): 28% ¹² - Frequência do genótipo ss (Brasil): 26,6% ⁸³ - Frequência do genótipo LL (caucasianos): 29-43% (e 1-13% em asiáticos) ⁶³ - Frequência do genótipo LL (caucasianos): 27,6% ⁸¹ - Frequência do genótipo LL (Nova Zelândia): 31% ³⁸ - Frequência do genótipo LL (Georgia – afro-americanos): 58,4% ⁷⁶ - Frequência do genótipo LL (Brasil): 33% ⁸³ - Frequência do genótipo Ls (caucasianos): 52% ³⁵ - Frequência do genótipo Ls (caucasianos): 48,8% ⁸¹ |
|--|---|

| | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> - Casos (critério ideação): 50,9% - Controlos (critério ideação): 47,1% | <ul style="list-style-type: none"> - Frequência do genótipo Ls (Nova Zelândia): 51%³⁸ - Frequência do genótipo Ls (Georgia – afro-americanos): 35,2%⁷⁶ - Frequência do genótipo Ls (Brasil): 40,4%⁸³ |
| <ul style="list-style-type: none"> - Frequência do genótipo Ls+L*s: 56,3% <ul style="list-style-type: none"> - Casos (critério ato): 58,3% - Controlos (critério ato): 54,9% - Casos (critério ideação): 56,6% - Controlos (critério ideação): 55,9% | |
| <ul style="list-style-type: none"> - Frequência do alelo L*: 4,6% <ul style="list-style-type: none"> - Casos (critério ato): 5,6% - Controlos (critério ato): 3,9% - Casos (critério ideação): 4,7% - Controlos (critério ideação): 4,4% | <ul style="list-style-type: none"> - Frequência do alelo L_G: 9,9%⁶⁴ - Frequência do alelo L_G: 8%⁶⁰ - Frequência do alelo L_G: 3,6%¹² |
| <ul style="list-style-type: none"> - Frequência do genótipo LL* : 2,3% <ul style="list-style-type: none"> - Casos (critério ato): 2,8% - Controlos (critério ato): 0,2% - Casos (critério ideação): 3,8% - Controlos (critério ideação): 0 | <ul style="list-style-type: none"> - Frequência do genótipo L_AL_G: 4,7%⁶⁰ - Frequência do genótipo L_AL_G: 7,2%¹² |
| <ul style="list-style-type: none"> - Frequência do genótipo L*s: 6,9% | <ul style="list-style-type: none"> - Frequência do genótipo L_Gs: 11,6%⁶⁰ |

-
- Casos (critério ato): 8,3%
 - Controlos (critério ato): 5,9%
 - Casos (critério ideação): 5,7%
 - Controlos (critério ideação): 8,8%
-

- Frequência do **genótipo L_Gs**: 8% ¹²

Fazendo uma análise à tabela de um modo mais genérico, facilmente se observa que tanto há dados na literatura em consonância com este estudo como há outros que se apresentam discordantes. O que não deixa de considerar-se mais ou menos “habitual” no que se refere à hipótese do 5-HTTLPR influenciar o comportamento suicida.¹¹

Focando-nos nos resultados discordantes, de um modo muito geral, parece que as discrepâncias que se observam poderão dever-se a questões mais culturais, tendo em conta que este tipo de estudo ainda não foi realizado no Alentejo e, possivelmente, os dados recolhidos na literatura não incluem estudos realizados em Portugal. Trata-se nomeadamente, das questões do sexo, do estado civil, de ter ou não filhos, da situação profissional e da história familiar de suicídio. No que diz respeito ao sexo, pode considerar-se, por exemplo, a questão de pedir ajuda, em que os homens, em determinadas culturas, têm uma maior relutância em fazê-lo, numa tentativa de não dar parte fraca e demonstrar pouca emocionalidade, enquanto noutras a procura de ajuda é vista como algo razoável e até o mais acertado a fazer e, não como uma questão de fraqueza.

Já as variáveis que surgem mais em sintonia com este estudo, parecem dever-se a questões menos dependentes de fatores culturais, como as adversidades na infância, a idade, a presença de distúrbios psiquiátricos e a escolaridade. A idade, por exemplo, independentemente da cultura em que se vive, desencadeia vários processos que podem conduzir à depressão, nomeadamente a falta de ocupação associada aos problemas de saúde crescentes.

Porém, há fatores onde os resultados obtidos são concordantes com alguns estudos e discordantes de outros, e isto poderá refletir questões relacionadas com a abordagem dos estudos, apontando para a necessidade de uniformizar as abordagens.

Nomeadamente, é de referir que na maioria dos estudos o grupo controlo é constituído por indivíduos sem qualquer patologia psiquiátrica e, neste caso, o grupo controlo foi constituído maioritariamente por indivíduos com alguma patologia psiquiátrica. Sabe-se que este tipo de patologia está associado ao comportamento suicida e, como tal, embora se torne mais difícil encontrar relações estatisticamente significativas, a realização do trabalho deste modo acaba por promover uma comparação mais equitativa, tornando a questão mais valorizável.

Mais adiante irão analisar-se outros problemas que poderão decorrer da utilização de diferentes metodologias entre estudos e acerca da importância da uniformização das abordagens.

Além disso, surgem-nos com este estudo resultados que, de acordo com a pesquisa realizada, parecem ser novidades, sendo exemplos disso mesmo, o facto da ausência, simultaneamente, de história familiar de suicídio e de adversidades na infância, estar mais ligada ao grupo controlo, quando a presença de ambas está mais associada ao grupo caso e ainda a relação que parece haver entre a presença de adversidades e as tentativas de suicídio mais letais.

Casos mais concretos são abordados de seguida.

a) FILHOS E A PREDISPOSIÇÃO AO COMPORTAMENTO SUICIDA

Relativamente à questão dos filhos [alínea vi) da tabela 12], a tendência geral para uma maior proporção com filhos nas mulheres que nos homens mantém-se no grupo com ideação suicida (A+B), mas o que se destaca para a presente investigação é a proporção entre os grupos A, B e C nos indivíduos com filhos, que é a mesma para o grupo A entre os dois sexos (43%), mas mais equilibrada entre B e C nas mulheres que nos homens (24% e 33% nas mulheres; 10% e 48% nos homens, respetivamente) (figura A30). Esta diferença, não sendo significativa devido ao tamanho da amostra realizada, sugere apesar disso que ter filhos contribui para a ideação suicida mais nas mulheres que nos homens (passagem de C para B), mas que a passagem para o ato (passagem de B para A) é atenuada de maneira compensatória, inflacionando o subgrupo B neste grupo de mulheres.

Ou seja, dá ideia que tendo filhos as mulheres passam mais facilmente para a ideação suicida mas depois até ao ato contêm-se mais, enquanto os homens com filhos mais dificilmente têm ideação suicida mas assim que a têm com facilidade passam ao ato.

Já em relação aos indivíduos sem filhos observa-se de certo modo o oposto, pois apesar de haver nos dois sexos uma proporção semelhante com ideação suicida, as mulheres passam mais facilmente ao ato, ao passo que os homens se contêm mais.

b) RELAÇÃO GENÓTIPO E LETALIDADE

Quando se pondera acerca da existência de uma relação entre o genótipo e a letalidade da tentativa de suicídio (alínea xxi) da tabela 12), embora os resultados não sejam estatisticamente significativos, levam-nos a considerar que, ao haver uma determinada tendência para o comportamento suicida, a heterozigotia Ls poderá eventualmente aumentar a tendência dos indivíduos a realizarem uma tentativa de suicídio de letalidade alta, essencialmente no sexo masculino. Seria de grande interesse averiguar esta associação numa amostra maior, tentando apurar se o genótipo heterozigótico Ls poderá relacionar-se então com a letalidade alta das tentativas de suicídio ou se, como referido num artigo, serão os genótipos contendo o alelo s (Ls e ss) que lhe estarão associados (apud. Gorwood et al., 2000).³³

c) DIFERENÇAS GENOTÍPICAS

Observando de um modo geral a comparação entre as frequências genotípicas obtidas neste estudo e as frequências de outros estudos (alínea xxiii) da tabela 12), observa-se que existe alguma concordância, mas tal não se pôde testar.

CLASSIFICAÇÃO FENOTÍPICA PELA PERSPETIVA BIALÉLICA OU FUNCIONAL

Já se referiu várias vezes acerca dos dois subtipos de alelo L do 5-HTTLPR que foram identificados, L_A e L_G (SNP A22G, rs25531), que parecem promover ao alelo L diferentes tipos de funcionalidade, acabando o L_G por se comportar como o alelo s, na medida em que promove uma transcrição menos eficiente quando comparada à do alelo L_A. Assim, a maioria dos estudos, embora tenha deixado este polimorfismo de parte nas suas análises, aconselha a que no futuro a análise estatística seja realizada tendo em conta esta questão. Por isso mesmo, estudos mais recentes, já têm incluído na sua análise esta variação, avaliando o polimorfismo 5-HTTLPR segundo a classificação bialélica e segundo a classificação funcional.

Foi por esta mesma razão que, neste estudo, uma vez que com a digestão com enzima *MspI* se conseguiu observar o alelo a que denominamos de L*, após se realizar a análise estatística segundo a classificação bialélica, foi posteriormente realizada uma análise igual

mas considerando a classificação funcional, sendo esta apresentada na última secção dos *Resultados*.

Poucos foram os resultados que diferiram entre uma e outra análise, estando tal de acordo com o estudo de Haberstick et al. (2016)⁸¹, que foi também realizado num grupo de caucasianos e em que não observaram diferenças de resultados entre as duas classificações. Neste sentido, uma das sugestões desses autores, será de que estudos futuros deverão ter como prioridade realizar análises embarcando ambas as classificações, bialélica e funcional, mas em diferentes etnias, uma vez que se sabe que existem diferenças étnicas na prevalência da depressão e nas frequências alélicas de 5-HTTLPR, não podendo deixar de considerar que tudo leva a crer que para caucasianos não parece haver diferenças significativas por se considerar ou não o SNP A22G, mas não obstante sugere-se a realização de mais estudos também em populações caucasianas, de modo a confirmar estes mesmos resultados.

Apesar das poucas diferenças que houve entre as análises, algumas são de ter em conta. Foi ao realizar-se uma ANOVA bifatorial entre o genótipo e as adversidades para o valor de TQIS, considerando o critério ideação (grupo caso A+B) que se observaram maiores discrepâncias (tabela A40). Ao realizar-se a análise pela forma funcional, além da significância que já existia para as adversidades passou também a haver para o genótipo e para a interação (na comparação dos 3 genótipos e na comparação LL com Ls+ss). Porém, estes resultados significativos devem ser interpretados com cautela, pelo que podemos mesmo dizer que não são valores nos quais devemos acreditar. Isto porque, os valores do quadrado médio do residual estão sempre entre 0,1 e 0,2, exceto nas análises em que obtivemos significância para o genótipo após a análise funcional, em que estes se encontram cerca de dez vezes abaixo (0,01), podendo tal inflacionar os valores de F; sem que exista um real efeito quer genotípico quer da interação. A explicação para estes baixos valores do quadrado médio do residual parecem dever-se ao facto de, nos poucos indivíduos com genótipo ss sem adversidades (n = 5), existirem valores de TQIS muito elevados. Assim, este reduzido número de dados não nos permite confiar nestes resultados.

MELHORAR A ABORDAGEM EM ESTUDOS FUTUROS

Foi explicado ao longo deste trabalho que descobrir o perfil genético que se encontra por detrás dos fenótipos complexos, como os distúrbios psiquiátricos e o comportamento suicida, continua a ser um desafio, além disso, a genética do suicídio é muito provavelmente a resultante de múltiplos genes e interações genéticas complexas entre eles. Junto com a complexidade das influências ambientais, o que se pode esperar é um árduo trabalho até se conseguir uma deteção precoce do risco de suicídio e ainda o desenvolvimento de ferramentas para a sua prevenção e gestão.^{5 8 13}

Recentemente, considerando os resultados que se têm obtido ao longo dos anos, houve um autor (apud. Healy, 2015)³⁴ que, após 20 anos dos seus próprios estudos, questionou o valor da hipótese da serotonina na depressão, sugerindo que talvez seja mais pertinente abandonar a hipótese da contribuição das variáveis biológicas, como a genética e as hormonas, uma vez que estas parecem ter uma contribuição demasiado pequena sobre a explicação das tentativas de suicídio, defendendo ainda que a teoria da dor mental poderá ser uma abordagem muito mais promissora.³⁴

Porém, esta opinião não invalida a participação de diversos polimorfismos relacionando a transmissão serotoninérgica (tabela 4) com a vulnerabilidade ao comportamento suicida, embora se compreenda pelos inúmeros resultados controversos ou inconclusivos. O efeito de cada polimorfismo será modesto individualmente, fazendo que a compreensão dos fatores genéticos sobre o comportamento suicida ainda esteja longe de totalmente elucidada.

Apesar de certos resultados se mostrarem dececionantes, não podemos deixar de ter em conta que em contrapartida existem tantos outros que fazem com que esta busca se torne motivante. Como é que se pode considerar abandonar a hipótese da contribuição da genética sobre o comportamento suicida quando tem sido demonstrado em estudos em gémeos que esta contribui com 21 a 50% da variância de tal comportamento^{8 10 13 33 41?} Poderá, sim, ser necessário melhorar e uniformizar a abordagem que tem sido utilizada, mas, na minha opinião, os resultados têm-se demonstrado no geral promissores e não faria qualquer sentido deixar de considerar esta relação. Assim, passo a apresentar algumas ideias que têm sido publicadas sobre como melhorar as abordagens.

Uma grande parte dos problemas deste tipo de estudos parece dever-se à questão das interações envolvendo um único gene não serem de magnitude suficiente, pelo que, uma

das principais sugestões, é de que se façam estudos em que se examine a maneira como vários fatores genéticos influenciam o comportamento suicida.⁴⁰ Nessa sequência, dado o conhecimento de que vários polimorfismos podem influenciar um dado fenótipo, uma abordagem que é por vezes sugerida passa pelo estudo de haplótipos.^{13 14} Este tipo de estudo permite verificar se um conjunto de polimorfismos num mesmo gene, ou em genes em desequilíbrio de ligação, poderá estar associado a um determinado fenótipo, como seja o comportamento suicida. Assim, o estudo de haplótipos poderá revelar-se extremamente útil, na medida em que um dado fenótipo, como o comportamento suicida, pode ser, e provavelmente é, influenciado pelo efeito cumulativo de vários polimorfismos.^{13 14}

Ainda assim, a abordagem a genes candidatos, mesmo quando se opta pelo estudo de haplótipos, leva muitas vezes a conflitos de resultados e, por isso, com a melhoria das técnicas têm sido realizados estudos de associação ao nível do genoma (GWAS)ⁿ, cuja abordagem permite uma análise de milhões de variações dentro de todo o genoma. Porém, esta abordagem apresenta algumas desvantagens.^{13 47} A primeira é o facto de que, uma vez que os efeitos fenotípicos das variantes alélicas comuns são tipicamente moderados, normalmente são necessárias amostras na ordem dos 10.000 ou mais casos e controlos, para que se possa obter poder suficiente na deteção de tais efeitos.⁴⁷ Além disso, os GWAS baseiam-se em SNPs e não detetam por exemplo CNVs, variações que já se demonstrou poderem desempenhar papéis importantes em certos fenótipos como o autismo, a esquizofrenia e a doença bipolar.⁴⁷ Apesar das abordagens genómicas serem por vezes referidas para a depressão e o comportamento suicida, os resultados a partir de estudos deste tipo não têm sido satisfatórios, não se demonstrando na maioria dos estudos evidências de associação do genoma a níveis significativos.^{11 13 16 41 48}

Por outro lado, como já foi referido previamente, Eric Dunn et al. (2015)⁴⁷ acreditam que os GWAS podem ser limitados, na medida em que não tomam em conta como as influências genéticas podem variar entre indivíduos com diferentes exposições ambientais. Assim, de modo a preencher essa lacuna, surge uma outra abordagem, os estudos de interação entre o genoma e o ambiente (GEWIS).⁴⁷ Contudo, este tipo de estudos encontra-se ainda numa fase inicial, pelo que é difícil tirar conclusões acerca da sua utilidade no futuro.

ⁿ Para informações adicionais, com maior detalhe, sobre os GWAS e os estudos que os têm realizado, consultar o artigo de Erin C. Dunn et al.⁴⁷

Uma recomendação que tem sido amplamente feita é a utilização de amostras maiores^{5 11 13} pois alguns autores supõem que a discordância que existe nos resultados se poderá dever ao facto das amostras serem em geral pequenas, o que reduz significativamente o poder estatístico.¹¹ Contudo, uma possível estratégia para aumentar o poder estatístico passa pela realização de meta-análises, em que se une numa mesma amostra indivíduos de diferentes estudos, aumentando o número da amostra e consequentemente aumentando as hipóteses de se encontrar uma associação, como foi já verificado em diversos locais da Revisão Bibliográfica.

Um outro conselho que tem sido dado diz respeito à população utilizada nos estudos, uma vez que poderão existir enviesamentos relacionados com estratificações étnicas.^{5 11 13} No caso da associação do 5-HTTLPR com a depressão e o comportamento suicida, têm havido discrepâncias entre os resultados com diferentes grupos étnicos; se por um lado pode tentar-se uma abordagem com populações homogéneas, por outro pode controlar-se para a etnicidade,¹³ bem como replicar certos estudos em diferentes populações, precisamente para verificar essas diferentes étnicas que parecem existir.⁵

Estas considerações levam ainda à questão da definição rigorosa e reprodutível dos fenótipos, como por exemplo na avaliação das adversidades. A par com a genética fala-se sempre da influência do ambiente e, dentro deste, o fator que é sem dúvida mais tido em conta são as adversidades. Ao longo do trabalho foi visto que praticamente todos os estudos envolvem as adversidades como fator a analisar, assim, sem dúvida que um dos pontos a melhorar em estudos futuros passa pela abordagem às mesmas. Nomeadamente, a medição das adversidades ao longo da vida poder ser feita de diversas maneiras, sendo especialmente difícil assegurar uma amostragem adequadamente aleatória das populações, pois os enviesamentos tendem a resultar em falsos positivos.⁴⁰ Alguns autores, por exemplo, argumentam que estudos que utilizam medidas com *checklists* de eventos de vida podem fornecer medições inadequadas de adversidades e que, existem certas medidas preferíveis a essas, como entrevistas detalhadas ou avaliações de momentos específicos da vida (apud. Uher & McGuffin, 2009 e Caspi et al., 2010).⁴⁰ É ainda essencial, quando se tem em conta as adversidades, ter em conta o número das mesmas, pois parece existir uma relação dose-resposta positiva entre o número de adversidades e o comportamento suicida^{53 55} e, ainda, o tipo de evento experienciado, uma vez que o abuso sexual, por exemplo, tem sido um dos achados mais consistentes para a associação com o comportamento suicida^{53 55}. Assim, o ideal seria que estudos futuros optassem por medições exaustivas das adversidades, dado

que já se demonstrou a sua influência sobre o comportamento suicida, e ainda, que essas medições fossem realizadas da mesma maneira entre estudos, facilitando posteriormente a comparação entre eles.

Além disso, indivíduos que passem por adversidades do mesmo tipo poderão responder a estas de diferentes maneiras, pelo que estudos futuros deveriam ainda tentar captar a maneira como diferentes pessoas lidam com o stress e ainda se as pessoas pedem ou não ajuda em relação à ideação suicida.⁵⁵

É ainda observável que as adversidades, ocorram em qualquer altura da vida que seja, contribuem para o risco de depressão, porém, o efeito das adversidades experienciadas na infância parece ser mais profundo e duradouro (apud. Brown et al., 2008 e Cicchetti & Rogosch, 2009)⁴⁴ embora não se saiba como é que as experiências de stress precoce têm impacto nas consequências de stress experienciado mais tarde, sugerindo-se que poderá haver determinados períodos de sensibilidade, como a adolescência, em que o cérebro poderá ser particularmente sensível ao stress.⁴⁶

Esta é uma das razões pela qual neste estudo nos tenhamos debruçado mais sobre as adversidades na infância. Porém, as adversidades na infância foram avaliadas de um modo muito geral, não tendo em conta aspetos como a altura exata em que ocorreram, a forma como ocorreram, a severidade e ainda a sua duração, embora seja notável que todos estes aspetos têm influência no desfecho causado pelo stress na infância⁴⁶, pelo que em estudos futuros, para que se tenham em devida conta todos os fatores relevantes, seja necessária uma abordagem multidisciplinar. É de salientar ainda que, dada a prevalência e o impacto destas experiências adversas torna-se essencial desenvolver estratégias de prevenção, particularmente em populações mais vulneráveis e necessitadas, como por exemplo as mulheres.²¹

A maioria dos estudos foca-se nos aspetos negativos que poderão advir do ambiente, como é o exemplo das adversidades na infância⁴⁷, contudo, mais recentemente, os estudos da interação genótipo-ambiente têm vindo a incorporar aspetos positivos do ambiente, como é o caso do suporte social, as intervenções psicossociais e outros fatores que poderão reduzir o risco de doença, dando-nos deste modo uma outra perspetiva do assunto (apud. Brody et al., 2009)⁴⁷.

Se com o passar do tempo os estudos começarem a fornecer evidências mais consistentes, estes resultados poderão não só aumentar o conhecimento dos fatores de risco genéticos e ambientais para as doenças psiquiátricas, como a depressão, e mesmo o comportamento suicida, mas também poderão dar uma grande ajuda na melhoria dos cuidados de saúde^{13 69}, inclusivamente a nível preventivo⁶⁹, nomeadamente testes genéticos que permitam identificar a predisposição ao suicídio, sem contudo ignorar a importância dos fatores sociais e culturais.⁸

Assim, é essencial que se desenvolva o conhecimento nesta área pois até ao momento, infelizmente, poucos tratamentos para o comportamento suicida, com base em fortes evidências, estão disponíveis, como os programas de prevenção (apud. Mann et al., 2005), as intervenções farmacológicas (apud. Khan et al., 2003) e os tratamentos psicológicos (apud. Crawford et al., 2007).⁵⁷

E, uma vez que “tratar” estes casos é difícil, uma das medidas mais importantes a adotar diz respeito ao plano de prevenção de suicídio. A Sociedade Portuguesa de Suicidologia veicula algumas recomendações da OMS nesse sentido^o: ter em atenção a forma como as notícias de suicídios são transmitidas, tentando não potenciar o fenómeno de imitação; aspetos relacionados com a aquisição e armazenamento de pesticidas e licença e uso de porte de arma, poderão necessitar de legislações mais rígidas; providenciar uma melhor formação, nomeadamente na área das perturbações de humor, aos médicos de família, uma vez que são estes os “psiquiatras de primeira linha”, que poderão eventualmente detetar síndromes pré-suicidas; a contratação de vários psicólogos em contexto escolar, para os quais uma formação em suicidologia seria uma mais valia, como acontece já em vários países. Uma outra medida, que não se enquadra propriamente na prevenção, mas que foi sim designada por “pósvenção”, por Shneidman (1973), diz respeito à intervenção específica junto dos familiares e amigos das vítimas de suicídio, em que o principal objetivo seria ajudar na resolução do processo de luto, incluindo o desencorajamento de eventuais ideias ou tendências suicidas.⁸⁴

Falando agora concretamente no polimorfismo 5-HTTLPR, foi já referido que foram identificados dois subtipos distintos do alelo L (L_A e L_G), dando origem a um modelo trialélico.

^o Para ter acesso a algumas dessas recomendações da OMS aconselha-se a visita e subscrição no site da Sociedade Portuguesa de Suicidologia (www.spsuicidologia.pt). ⁸⁴

Estes subtipos do alelo L, se incluídos em futuras investigações, poderão ajudar a esclarecer achados inconsistentes dos estudos de associação com o 5-HTTLPR.^{2 69}

Há ainda a ter em conta em estudos futuros que, embora a grande maioria dos estudos até ao momento se foque na depressão como precursora do comportamento suicida, outras patologias psiquiátricas, como a esquizofrenia, a doença bipolar e os distúrbios de personalidades, são importantes na contribuição para o comportamento suicida ⁴¹, pelo que deverão ser tidas em conta. Tal, foi mesmo confirmado neste estudo, em que foi demonstrado que as patologias psiquiátricas influenciam o comportamento suicida, incluindo a ideação, quer se considere apenas a depressão quer se considerem outras patologias psiquiátricas não depressivas.

Uma questão que, na minha opinião, tem falhado em vários estudos, diz respeito ao sexo, que, como variável com grande impacto tanto nas taxas de suicídio como nos métodos usados ¹³, deveria receber uma maior atenção. Assim, certos resultados incongruentes que têm surgido poderão dever-se ao facto de certas questões variarem consoante o sexo, pelo que aconselharia, no futuro, a que fosse dado ênfase à realização de testes comparando sexos e mesmo analisando, por vezes, homens e mulheres separadamente.

E, na sequência, aconselho ainda a que se dê destaque à questão da idade, pois, como referido por Richard Liu e Ivan Miller (2014)⁵⁴ há poucos estudos deste tipo em idosos, embora se saiba que estes constituem um dos grupos etários onde mais ocorre o suicídio, principalmente nos homens.

Por último, Jose de Leon et al.³⁴ aconselham os investigadores da temática do suicídio a lerem mais acerca do pensamento de médicos como Jaspers e Feinstein. Jaspers descreveu a psiquiatria como uma ciência híbrida, propondo que para o estudo desta se devessem combinar os métodos das ciências naturais com os métodos das ciências sociais. Enquanto Feinstein insistiu que a medicina baseada em evidências tem dificuldade em lidar com *outliers* e com heterogeneidade, embora estes sejam conceitos de extrema importância quando se tenta entender as tentativas de suicídio. Porém, sublinha-se a questão de toda esta temática ser essencialmente abordada na dimensão do sistema nervoso psicológico, quando poderá ser de grande interesse focar determinadas questões na neurobiologia propriamente dita, uma vez que já se viu que a expressão da serotonina difere em diferentes áreas cerebrais.^{37 66 69}

CONCLUSÃO

Nos últimos 21 anos, desde que Heils et al. (1996) reportaram pela primeira vez a existência do polimorfismo 5-HTTLPR, o estudo sobre a influência das variantes desse polimorfismo, quer sobre a depressão, quer sobre o comportamento suicida propriamente dito, tem sido intenso.

Embora no presente estudo não tenha sido evidenciada uma relação entre o polimorfismo 5-HTTLPR e o comportamento suicida, este trabalho permitiu obter vários resultados interessantes, nomeadamente algumas das associações que foram encontradas que, aparentemente, não se encontram ainda descritas na literatura.

Para este estudo foram feitas várias análises envolvendo o score do QIS, apresentando muitas delas resultados sugestivos, podendo tal incitar à sua replicação em estudos futuros, uma vez que até à data não foram encontrados outros estudos equivalentes onde se fizesse este tipo de análise, impossibilitando a comparação de resultados, mas deixando já uma marca sugestiva que merece ser explorada.

A abundante literatura investigando esta associação patenteia resultados inconsistentes entre si, podendo não refletir diretamente uma ausência de associação, antes chamando a atenção para a necessidade de aperfeiçoar e normalizar as abordagens.^{5 11 13 14 40 53 55} Nomeadamente, regra geral, estes estudos envolvem normalmente pessoas com tentativas de suicídio e tentam depois extrapolar os resultados para a questão do suicídio completo. Mas, como referido por Baca-Garcia e Blasco-Fontecilla (2015)³⁴ este tipo de estratégia poderá levar a 2 problemas. Em primeiro lugar, pessoas que cometem suicídio podem ser *outliers* face ao grupo de pessoas que tentam o suicídio e, em segundo lugar, pessoas que tentam o suicídio e pessoas que se suicidam podem representar diferentes populações, com pouca sobreposição. Um outro problema dos estudos no geral tem a ver com o facto de alguns deles não especificarem, tanto quanto seria necessário, se se referem a ideação suicida, tentativas de suicídio ou suicídio completo, falando-se muitas vezes apenas no termo geral “comportamento suicida”.

Assim, mais estudos necessitam de ser replicados, seguindo-se algumas das recomendações descritas no capítulo da Discussão, para uma melhor compreensão do papel genético do sistema serotoninérgico, assim como de certos fatores ambientais

(nomeadamente ontogénicos), sobre o comportamento suicida, de modo a que se possa eventualmente auxiliar na prevenção deste tipo de comportamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) SILVA, Rafael, 2010. Análise de polimorfismos nos genes dos receptores de serotonina 5-HT_{1A} e 5-HT_{2A} em pacientes deprimidos que tentaram suicídio. Tese de mestrado em Ciências Médicas. Faculdade de Medicina – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 74pp.
- 2) SEGAL, Jair, 2009. Aspectos genéticos do comportamento suicida. Tese de doutoramento em Psiquiatria. Faculdade de Medicina – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 69pp.
- 3) ANGUELOVA, M.; BENKELFAT, C. & TURECKI, G., 2003. A systematic review of association studies investigating genes coding for serotonin receptors and the serotonin transporter: II. Suicidal behavior. *Molecular Psychiatry*. vol. 8 (7): 646-653; DOI: 10.1038/sj.mp.4001336
- 4) MERGEN, Hatice et al., 2006. Lack of association between the serotonin transporter and tryptophan hydroxylase gene polymorphisms and completed suicide. *Psychiatric Genetics*. vol. 16 (2): 53; DOI: 10.1097/01.ypg.0000199442.75505.f7
- 5) SEGAL, Jair et al., 2006. Association between suicide attempts in south Brazilian depressed patients with the serotonin transporter polymorphism. *Psychiatry Research*. vol. 143 (2-3): 289-291
- 6) LIN, Pao-Yen & TSAI, Guochuan, 2004. Association between serotonin transporter gene promoter polymorphism and suicide: results of a meta-analysis. *Biological Psychiatry*. vol. 55 (10): 1023-1030; DOI: 10.1016/j.biopsych.2004.02.006
- 7) WILLOUR, Virginia et al., 2011. A genome-wide association study of attempted suicide. *Molecular Psychiatry*. vol. 17 (4): 433-444; DOI: 10.1038/mp.2011.4
- 8) FECYT – Spanish Foundation for Science and Technology, 2010. Mutations on three genes could predispose people to suicidal behaviour. *ScienceDaily*
- 9) TURECKI, Gustavo, 1999. O suicídio e a sua relação com o comportamento impulsivo-agressivo. *Revista Brasileira de Psiquiatria*. vol. 21; DOI: 10.1590/S1516-44461999000600006

- 10) LIMA, Luciane, 2007. Polimorfismo N251K no gene do recetor alfa 2A adrenérgico em pacientes deprimidos que tentaram o suicídio. Tese de mestrado em Ciências Médicas. Faculdade de Medicina – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 93pp.
- 11) PUJOL, Clarissa, 2006. Análise do polimorfismo A218C no gene da triptofano hidroxilase em pacientes deprimidos que tentaram o suicídio. Tese de mestrado em Ciências Médicas. Faculdade de Medicina – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 88pp.
- 12) SCHENKEL, Laila et al., 2007. Identificação das variáveis A e G no polimorfismo 5HTTLPR no gene transportador da serotonina em pacientes deprimidos com tentativa de suicídio. Revista HCPA, Porto Alegre.
- 13) ANTYPAS, Niki; SERRETTI, Alessandro & RUJESCU, Dan, 2013. Serotonergic genes and suicide: A systematic review. *European Neuropsychopharmacology*. vol. 23 (10): 1125-1142; DOI: 10.1016/j.euroneuro.2013.03.013
- 14) WILSON, David, 2008. Associação de haplótipos de genes do sistema serotoninérgico e impulsividade. Tese de mestrado em Ciências. Faculdade de Medicina – Universidade de São Paulo. 81pp.
- 15) CUNHA, Nádia, 2006. Estudo de genes de susceptibilidade à dependência de cocaína: o papel da MAO-A, COMT e 5-HTT. Tese de mestrado em Ciências. Faculdade de Medicina – Universidade de São Paulo. 80pp.
- 16) MAN, J. John, 2013. The serotonergic system in mood disorders and suicidal behaviour. *Philosophical Transactions Of The Royal Society B: Biological Sciences*. vol. 368 (1615): 7pp; DOI: 10.1098/rstb.2012.0537
- 17) LESCH, K. P. et al., 1994. Organization of the human serotonin transporter gene. *Journal of Neural Transmission*. vol 95: 157-162
- 18) MERGL, Roland et al., 2015. What are reasons for the large gender differences in the lethality of suicidal acts? An epidemiological analysis in four european countries. *PloS One*. vol. 10 (7): 1-18; DOI: 10.1371/journal.pone.0129062
- 19) SANTANA, Paula et al., 2015. Suicide in Portugal: Spatial determinants in a context of economic crisis. *Health & Place*. vol. 35: 85-94; DOI: 10.1016/j.healthplace.2015.07.001

- 20) DIAS, D. et al., 2014. Suicides in the centre of Portugal: seven years analysis. *Forensic Science International*. vol. 234: 22-28; DOI: 10.1016/j.forsciint.2013.10.034
- 21) PINTO, Vanessa; ALVES, Joana & MAIA, Ângela, 2015. Adversidade na infância prediz sintomas depressivos e tentativas de suicídio em mulheres adultas portuguesas. *Estudos de Psicologia* (Campinas). vol. 32 (4): 617-625; DOI: 10.1590/0103-166X2015000400005
- 22) VEIGA, Francisco, 2002. O suicídio em Portugal. Publicado na página online da Sociedade Portuguesa de Suicidologia.
- 23) TUR, Orlando et al., 2001. O suicídio em Portugal e Espanha – Padrões e contrastes de uma geografia plural. *Psiquiatria clínica*. vol. 22 (1): 49-58
- 24) DORES, Roberto (2005, 13 de Março). Suicídio no Alentejo tem taxa mais alta do mundo. *Diário de Notícias*
- 25) LEIDERFARB, Luciana & MIRANDA, Tiago (2012, 5 de Julho). *Onde a solidão mata*. *Expresso*. Consultado em dezembro de 2015 em < <http://expresso.sapo.pt/actualidade/onde-a-solidao-mata=f737718>>
- 26) WALTHER, Diego & BADER, Michael, 2003. A unique central tryptophan hydroxylase isoform. *Biochemical Pharmacology*. vol. 66(9): 1673-1680
- 27) PRATYUSH, D. et al., 2012 A new approach to touch down method using betaine as co-solvent for increased specificity and intensity of GC rich gene amplification. *Gene*. vol. 497(2): 269-272. DOI: 10.1016/j.gene.2012.01.031
- 28) Sociedade Portuguesa de Suicidologia. Estatística. 2013, 19 de junho. Consultado em dezembro de 2015 em <<http://www.spsuicidologia.pt/sobre-o-suicidio/estatistica>>
- 29) Direção Geral de Saúde. Portugal: Saúde Mental em números – 2014. 2014; pág. 11-23. Consultado em fevereiro de 2016 em <<http://www.dgs.pt>>
- 30) GONÇALVES, Amadeu et al., 2014. Ideação suicida em estudantes do ensino superior politécnico: Influência de algumas variáveis sociodemográficas, académicas e comportamentais. *Millenium*. vol. 47: 191-203
- 31) a) Instituto Nacional de Estatística. Estatísticas da Saúde 2013. 2015; pág. 202-272. ISBN: 978-989-25-0313-4; Consultado em março de 2016 em <<https://www.ine.pt>>

- 31) b) Instituto Nacional de Estatística. Boletim Mensal de Estatística – Janeiro 2016. 2016; pág. 31. ISSN: 0032-5082; Consultado em março de 2016 em <<https://www.ine.pt>>
- 32) BASTOS, Joana (2016, 24 de Março). Saúde mental: Os portugueses são mais vulneráveis ao sofrimento. *Expresso*. Consultado em março de 2016 em <<http://expresso.sapo.pt/sociedade/2016-03-24-Saude-mental-Os-portugueses-sao-mais-vulneraveis-ao-sofrimento>>
- 33) BACA-GARCIA, E., FERNANDEZ-PIQUERAS, J. & LEON, J., 2002. A gender-specific association between the serotonin transporter gene and suicide attempts. *Neuropsychopharmacology*. vol. 26 (5): 692-695; DOI: 10.1016/S0893-133X(01)00394-3
- 34) LEON, J., BACA-GARCIA, E. & BLASCO-FONTECILLA, H., 2015. From the serotonin model of suicide to a mental pain model of suicide. *Psychotherapy and Psychosomatics*. vol. 84 (6): 323-329; DOI: 10.1159/000438510
- 35) HEILS, A. et al., 1996. Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. *Journal of Neurochemistry*. vol. 66 (6): 2621-2624; PMID: 8632190
- 36) LOPEZ-CASTROMAN, J. et al., 2015. P. A cross-national tool for assessing and studying suicidal behaviors. *Archives of Suicide Research*. vol. 19 (3): 335-349; DOI: 10.1080/13811118.2014.981624
- 37) OQUENDO, M. A. et al., 2014. Toward a biosignature for suicide. *Am. J. Psychiatry*. vol. 171 (12): 1259-77; DOI: 10.1176/appi.ajp.2014.14020194
- 38) CASPI, A. et al., 2003. Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5HTT gene. *Science*. vol. 301 (5631): 386-389; DOI: 10.1126/science.1083968
- 39) MOFFITT, T. E. et al., 2007. Depression and generalized anxiety disorder – cumulative and sequential comorbidity in a birth cohort followed prospectively to age 32 years. *Arch. Gen. Psychiatry*. vol. 64 (6): 651-660; DOI: 10.1001/archpsyc.64.6.651
- 40) FERGUSON, D. M. et al., 2011. Life stress, 5-HTTLPR and mental disorder: findings from a 30-year longitudinal study. *The British Journal of Psychiatry*. vol. 198: 129-135; DOI: 10.1192/bjp.bp.110.085993

- 41) TURECKI, G., 2014. The molecular bases of the suicidal brain. *Nature Reviews Neuroscience*. vol. 15: 802-816; DOI: 10.1038/nrn3839
- 42) HUGHES, M. M., CONNOR, T. J. & HARKIN, A., 2016. Stress-Related Immune Markers in Depression: Implications for Treatment. *International Journal of Neuropsychopharmacology*. vol. 19 (6): 1-19; DOI: 10.1093/ijnp/pyw001
- 43) CASPI, A. & MOFFITT, T. E., 2006. Gene–environment interactions in psychiatry: joining forces with neuroscience. *Nature Reviews Neuroscience*. vol. 7: 583-590; DOI: 10.1038/nrn1925
- 44) CASPI, A. et al., 2011. Serotonin transporter gene moderates childhood maltreatment's effects on persistent but not single-episode depression: Replications and implications for resolving inconsistent results. *Journal of Affective Disorders*. vol. 135: 56-65; DOI: 10.1016/j.jad.2011.03.010
- 45) JACOBSA, R. H., et al., 2015. Biomarkers of intergenerational risk for depression: A review of mechanisms in longitudinal high-risk (LHR) studies. *J Affect Disord*. vol. 175: 494-506; DOI: 10.1016/j.jad.2015.01.038
- 46) CHEN, Y. & BARAM, T. Z., 2015. Toward understanding how early-life stress reprograms cognitive and emotional brain networks. *Neuropsychopharmacology*. vol. 41 (1): 197-206; DOI: 10.1038/npp.2015.181
- 47) DUNN, E. C., et al., 2015. Genetic determinants of depression: Recent findings and future directions. *Harvard Review of Psychiatry*. vol. 23 (1): 1-18; DOI: 10.1097/HRP.0000000000000054
- 48) SURI, D., et al., 2015. Monoamine-Sensitive Developmental Periods Impacting Adult Emotional and Cognitive Behaviors. *Neuropsychopharmacology*. vol. 40: 88-112; DOI: 10.1038/npp.2014.231
- 49) TOUFEXIS, D. et al., 2014. Stress and the Reproductive Axis. *Journal of Neuroendocrinology*. vol. 26: 573-586; DOI: 10.1111/jne.12179
- 50) WONG, C. C. et al., 2010. A longitudinal study of epigenetic variation in twins. *Epigenetics*. vol. 5 (6): 516-526; DOI: 10.4161/epi.5.6.12226

- 51) SHALEV, I. et al., 2014. Internalizing disorders and leukocyte telomere erosion: a prospective study of depression, generalized anxiety disorder and post-traumatic stress disorder. *Molecular Psychiatry*. vol. 19 (11): 1163-70; DOI: 10.1038/mp.2013.183
- 52) BAUER, I. et al., 2015. Serotonergic gene variation in substance use pharmacotherapy: a systematic review. *Pharmacogenomics*. vol. 16 (11): 1-8; DOI: 10.2217/pgs.15.72.
- 53) SERAFINI, G. et al., 2015. Life adversities and suicidal behavior in young individuals: a systematic review. *Eur Child Adolesc Psychiatry*. vol 24: 1423-46; DOI: 10.1007/s00787-015-0760-y
- 54) LIU, R. T. & MILLER, I., 2014. Life events and suicidal ideation and behavior: A systematic review. *Clinical Psychology Review*. vol. 34 (3): 181-192; DOI: 10.1016/j.cpr.2014.01.006
- 55) STANSFELD, S. A. et al., 2017. Childhood adversity and midlife suicidal ideation. *Psychological Medicine*. vol. 47 (2): 327-340; DOI: 10.1017/S0033291716002336
- 56) Suicidal Behaviour Research Lab. The Integrated Motivational-Volitional Model of Suicidal Behaviour (IMV). Consultado em janeiro 2017 em <<http://www.suicideresearch.info/the-imv>>
- 57) O'CONNOR, R. C & NOCK, M. K., 2014. The psychology of suicidal behaviour. *Lancet Psychiatry*. vol. 1 (1): 73-85; DOI: 10.1016/S2215-0366(14)70222-6
- 58) ZHANG, J., 2016. From Psychological Strain to Disconnectedness - A Two-Factor Model Theory of Suicide. *Crisis*. vol. 37 (3): 169-175; DOI: 10.1027/0227-5910/a000420
- 59) TAUB, D. R. & PAGE, J., 2016. Molecular Signatures of Natural Selection for Polymorphic Genes of the Human Dopaminergic and Serotonergic Systems: A Review. *Front Psychol*. vol. 7:857; DOI: 10.3389/fpsyg.2016.00857
- 60) PRASCHAK-RIEDER, N. et al., 2007. Novel 5-HTTLPR Allele Associates with Higher Serotonin Transporter Binding in Putamen: A [11C] DASB Positron Emission Tomography Study. *Biol Psychiatry*. vol. 62 (4): 327-331; DOI: 10.1016/j.biopsych.2006.09.022
- 61) NAKAMURA, M., 2000. The human serotonin transporter gene polymorphism (5-HTTLPR) shows ten novel allelic variants. *Molecular Psychiatry*. vol. 5 (1): 32-38; PMID: 10673766

- 62) KUNZ, M. et al., 2016. Relationship of 5-HTTLPR Polymorphism with Various Factors of Pain Processing: Subjective Experience, Motor Responsiveness and Catastrophizing. *PLoS One*. vol. 11(4); DOI: 10.1371/journal.pone.0153089
- 63) KARLOVIĆ, D. & SERRETTI, A., 2013. Serotonin transporter gene (5-HTTLPR) polymorphism and efficacy of selective serotonin reuptake inhibitors – do we have sufficient evidence for clinical practice. *Acta Clin Croat*. vol. 52 (3): 353-362; PMID: 24558768
- 64) KRAFT, J. B. et al., 2005. Sequence Analysis of the Serotonin Transporter and Associations with Antidepressant Response. *Biol Psychiatry*. vol. 58 (5): 374-381; DOI: 10.1016/j.biopsych.2005.04.048
- 65) Genetics Home Reference – National Library of Medicine. SLC6A4 gene. Consultado em janeiro de 2017 em <<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/SLC6A4>>
- 66) Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) – Solute Carrier Family 6 (neurotransmitter transporter, serotonin), Member 4; SLC6A4. Consultado em janeiro de 2017 em <<http://www.omim.org/entry/182138>>
- 67) BACA-GARCÍA, E. & AROCA, F., 2014. Factores de riesgo de la conducta suicida asociados a trastornos depresivos y ansiedad. *Salud Mental*. vol. 37 (5): 373-380
- 68) CONEJERO, I. et al., 2016. Sociodemographic Antecedent Validators of Suicidal Behavior: A Review of Recent Literature. *Curr Psychiatry Rep*. vol. 18 (10): 94; DOI: 10.1007/s11920-016-0732-z
- 69) MARGOUB, M. A. & MUSHTAQ, D., 2011. Serotonin transporter gene polymorphism and psychiatric disorders: Is there a link? *Indian J Psychiatry*. vol. 53 (4): 289-299; DOI: 10.4103/0019-5545.91901
- 70) FREITAS, Silvana Andreia, 2011. Variáveis preditoras da ideação suicida em alcoólicos e deprimidos. Tese de mestrado em Psicologia Clínica e da Saúde. Faculdade de Ciências Humanas e Sociais, departamento de Psicologia – Universidade do Algarve. 89pp.
- 71) BECK, Aaron, KOVACS, Maria & WEISSMAN, Arlene., 1979. Assessment of suicidal intention – The Scale for Suicide Ideation. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*. vol. 47 (2): 343-352

- 72) FAÇANHA, Jorge Daniel, 2013. *Avaliação do risco de suicídio – Contributos para a validação do índice NGASR para a população portuguesa*. Dissertação de mestrado em Enfermagem de Saúde Mental e Psiquiatria. Escola Superior de Enfermagem de Coimbra. 163pp.
- 73) GONÇALVES, Rui Abrunhosa & MOREIRA, Nuno Alexandre, 2010. Perturbação mental e ideação suicida entre reclusos preventivos. *Análise Psicológica*. vol. 1 (XXVIII): 133-148
- 74) OTOWA, Takeshi et al., 2016. The first pilot genome-wide gene-environment study of depression in the japanese population. *PLoS One*. vol. 11 (8): e0160823; DOI: 10.1371/journal.pone.0160823
- 75) EC., Dunn et al., 2016. Genome-wide association study (GWAS) and genome-wide by environment interaction study (GWEIS) of depressive symptoms in african american and hispanic/latina women. *Depress Anxiety*. vol. 33 (4): 265-280; DOI: 10.1002/da.22484.
- 76) GH., Brody et al., 2009. Prevention effects moderate the association of 5-HTTLPR and youth risk behavior initiation: gene x environment hypotheses tested via a randomized prevention design. *Child Development*. vol. 80 (3): 645-661. DOI: 10.1111/j.1467-8624.2009.01288.x.
- 77) VASCONCELOS-RAPOSO, José et al., 2016. Níveis de ideação suicida em jovens adultos. *Estudos de Psicologia* (Campinas). vol. 33 (2): 345-354. DOI: 10.1590/1982-02752016000200016
- 78) DE LUCA, Vincenzo et al., 2005. *Association study of a novel functional polymorphism of the serotonin transporter gene in bipolar disorder and suicidal behaviour*. *Psychopharmacology*. vol. 182: 128-131. DOI: 10.1007/s00213-005-0046-z
- 79) MURPHY, Dennis & MOYA, Pablo., 2011. Human serotonin transporter gene (SLC6A4) variantes: their contributions to understanding pharmacogenomic and other functional GxG and GxE differences in health and disease. *Current Opinion in Pharmacology*. vol. 11 (1): 3-10. DOI: 10.1016/j.coph.2011.02.008
- 80) JUHASZ, G. et al., 2015. Variability on the effect of 5-HTTLPR on depression in a large european population: the role of age, symptom profile, type and intensity of life stressors. *PLoS One*. vol. 10(3): e0116316. DOI: 10.1371/journal.pone.0116316

- 81) HABERSTICK, Brett et al., 2016. Depression, stressful life events and the impact of variation in the serotonin transporter: findings from the National Longitudinal Study of Adolescent to Adult Health(Add Health). *PLoS One*. vol. 11(3): e0148373. DOI: 10.1371/journal.pone.0148373
- 82) MURPHY, Dennis; MAILE, Michelle & VOGT, Nicholas, 2013. 5-HTTLPR: white knight or dark blight? *ACS Chemical Neuroscience*. vol. 4(1): 13-15. DOI: 10.1021/cn3002224
- 83) SEGAL, Jair et al., 2009. Novel allelic variants in the human serotonin transporter gene linked polymorphism (5-HTTLPR) among depressed patients with suicide attempt. *Neuroscience Letters*. vol. 451(1): 79-82. DOI: 10.1016/j.neulet.2008.12.015
- 84) SARAIVA, Carlos, 2010. Suicídio: de Durkheim a Shneidman, do determinismo social à dor psicológica individual. *Psiquiatria Clínica*. vol. 31(3): 185-205.
- 85) FUZINATO, Daniela et al., 2004. Perfil do suicida na região centro de Portugal. *Revista de psiquiatria clínica*. vol. 24: 277-282
- 86) PLOMIN, R. et al., 2016. Top 10 replicated findings from behavioral genetics. *Perspectives on Psychological*. vol. 11: 3-23
- 87) LEE, James & MCGUE, Matt, 2016. Why behavioral genetics matters: comment on Plomin et al.(2016). *Association for Psychological Science*. vol. 11(1): 29-30. DOI: 10.1177/1745691615611932
- 88) FOUNTOULAKIS, Konstantinos et al., 2014. Relationship of suicide rates to economic variables in Europe: 2000-2011. *The British Journal of Psychiatry*. vol. 205: 486-496. DOI: 10.1192/bjp.bp.114.147454
- 89) FERREIRA, Joaquim & CASTELA, Maria, 1999. Questionário de ideação suicida. In SIMÕES, Mário, GONÇALVES, Miguel & ALMEIDA, Leandro – Testes e provas psicológicas em Portugal. *Braga: Sistemas Humanos e Organizacionais*. vol. II, pp. 129-130
- 90) SERRETTI, A. et al., 2007. Meta-analysis of serotonin transporter gene promoter polymorphism (5-HTTLPR) association with selective serotonin reuptake inhibitor efficacy in depressed patients. *Molecular Psychiatry*. vol. 12: 247-257. DOI: 10.1038/sj.mp.4001926
- 91) PORCELLI, Stefano, FABBRI, Chiara & SERRETTI, Alessandro. 2012. Meta-analysis of serotonin transporter gene promoter polymorphism (5-HTTLPR) association with

antidepressant efficacy. *European Neuropsychopharmacology*. vol. 22 (4): 239-258. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.euroneuro.2011.10.003>

92) TAYLOR, Matthew et al., 2010. Antidepressant response and the serotonin transporter gene-linked polymorphic region (5-HTTLPR). *Biological Psychiatry*. vol. 68 (6): 536-543. DOI: 10.1016/j.biopsych.2010.04.034

93) PEZAWAS, Lukas et al., 2005. 5-HTTLPR polymorphism impacts human cingulate-amygdala interactions: a genetic susceptibility mechanism for depression. *Nature Neuroscience*. vol. 8: 828-834. DOI: 10.1038/nn1463

94) FREGEL, R., GONZÁLEZ, A. & CABRERA, V. M., 2010. Improved ethanol precipitation of DNA. *Electrophoresis*. vol. 31 (8): 1350-1352. DOI: 10.1002/elps.200900721

95) OKONECHNIKOV, K., GOLOSOVA O., FURSOV, M. & UGENE team, 2012. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*. vol. 28 (8): 1166-1167. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts091

96) MANN, J. John & CURRIER, Dianne, 2012. Medication in suicide prevention insights from neurobiology of suicidal behavior. Editor: Dwivedi Y. *The neurobiological basis of suicide*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis. Capítulo 21.

97) PERROUD, Nader et al., 2009. Suicidal ideation during treatment of depression with escitalopram and nortriptyline in Genome-Based Therapeutic Drugs for Depression (GENDEP): a clinical trial. *BMC Medicine*. vol. 7: 60. DOI: 10.1186/1741-7015-7-60

APÊNDICE

- Sequência do fragmento amplificado (alelo L_A)

The screenshot shows the UCSC In-Silico PCR tool interface. The browser address bar displays the URL: genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgPcr?hgsid=506497189_73rl7AJFZmRHpE. The navigation bar includes links for Genomes, Genome Browser, Tools, Mirrors, Downloads, My Data, Help, and About Us. The main content area is titled "UCSC In-Silico PCR" and displays the following DNA sequence:

```
>chr17:30237033+30237482 450bp TTCTGGTGCCACCTAGACGC TGAATGCCAGCACCTAACCC  
TTCTGGTGCCACCTAGACGCcagggcggggaccgcaaggtggcgggagg  
cttgaggccgggatgccccgaatactggtaggtgcaaggagaatgct  
ggaggggtgcaggggggatgccccgggtgcatgggggatgctgggggt  
gcaggggggatactgcgaggggtgcaggggggataatgggggttcaggg  
gagatccctgggagaggtgcagggggatgctggaaggctgcagggggat  
gctgggggtgcaggggatgctggggggctgcagggggatgctgggg  
gtgcaggggggatgccccgaggggtgaaggggggataatgggggatgca  
ggagcgatccctaggaggggtacagggagttgctgggaggttcagggggg  
atgctgggagggctgcagtagggacattagGGGTAGGTGCTGGCATCA
```

Below the sequence, the "Primer Melting Temperatures" section shows:

Forward: 63.6 C ttctggtgccacctagacgc
Reverse: 63.3 C tgaatgccagcacctaacc

The temperature calculations are done assuming 50 mM salt and 50 nM annealing oligo concentration. The code to calculate the melting temp comes from [Primer3](#).

Figura A1 – Sequência que é amplificada ao utilizarem-se os primers 5-HTTf e 5-HTTr (posicionados no cromossoma 17, entre 30237033 e 30237482). Na parte inferior da imagem são referidas as temperaturas de desnaturação de cada um dos primers, sendo estas muito semelhantes entre si. Fonte: UCSC Genome Browser hg38, <http://genome-euro.ucsc.edu> (acedido em 12 de Agosto de 2016).

- Teste a duas soluções de PCR, e PCR com gradiente de temperatura

Numa primeira fase (não reportada), demonstrou-se que não era vantajoso utilizar condições diferentes do standard para a enzima e substrato, isto é, 0,025 U/uL Kapa Taq polimerase e 4 x 0,2 mM dNTPs respetivamente, e que não havia ganho especial em realizar um protocolo touchdown.

Na segunda fase, e usando um dos extratos anteriormente realizado (extrato de código Z013), compararam-se duas soluções de PCR, descritas na tabela seguinte.

Tabela A2 – Componentes utilizados na segunda fase da experiência de otimização das condições de PCR.

| Componentes | Referência | Solução 1 | Solução 2 |
|--|---|------------|------------|
| Tampão Kapa Taq polimerase | Componentes do kit Kapa, ref ^a BK005 | 1× | 1× |
| dNTPs | | 4 × 0,2 mM | 4 × 0,2 mM |
| Kapa Taq polimerase | | 0,025 U/μL | 0,025 U/μL |
| Pirofosfatase (inorg.) termoestável | New England Biolabs, ref ^a M0296 | 0,004 U/μL | 0,004 U/μL |
| Dimetil sulfóxido (DMSO) | Calbiochem, ref ^a 317275 | 0 | 5% (v/v) |
| Betaína | usb/Affymetrix, ref ^a 77507 | 0 | 1 M |

A combinação de DMSO e betaína, usada na solução 2, reduz a interferência dos segmentos ricos em pares GC.⁸⁷

Os primers 5HTTf e 5HTTr foram testados a 0,1, 0,25 e 0,5 μM cada.

Cada combinação (solução de enzima × concentração de primers) foi replicada 4 vezes, onde cada réplica foi submetida a uma temperatura de hibridação diferente (58,8 até 65,5 °C), usando um gradiente de temperaturas no respectivo passo.

O protocolo de PCR foi iniciado por 5 minutos a 95 °C, seguido de 30 ciclos de temperaturas (95 °C, 30" – gradiente, 60" – 72 °C, 40"), concluindo-se com 5 minutos a 72 °C. A análise num gel de agarose a 1,5% em TBE 0,5× produziu o resultado seguinte (figura A3):

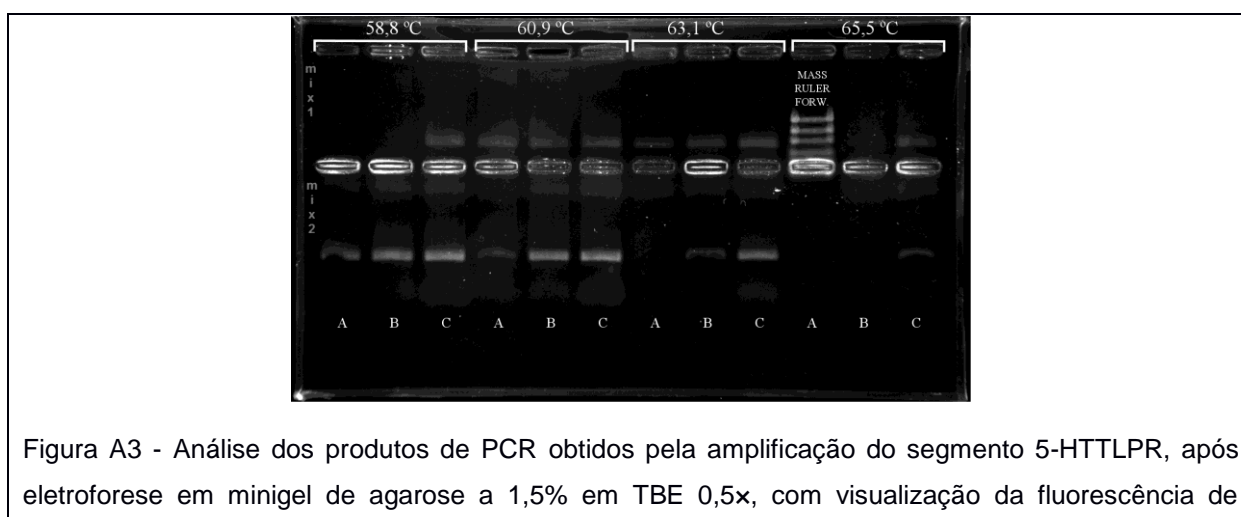


Figura A3 - Análise dos produtos de PCR obtidos pela amplificação do segmento 5-HTTLPR, após eletroforese em minigel de agarose a 1,5% em TBE 0,5×, com visualização da fluorescência de

GelRed (Biotium) sob luz ultravioleta a 312 nm. Mix 2 contém DMSO e Betaína (solução 2 na tabela A2), mix 1 é o controle; A/B/C designam as concentrações de primers utilizadas: 0,1, 0,25 e 0,5 μM , respectivamente; as temperaturas dizem respeito ao passo de annealing da PCR.

Esta experiência revelou vantagens do uso de DMSO e betaína (mix/solução 2), bem como do aumento da concentração de primers pelo menos até 0,5 μM , e uma temperatura ótima de annealing entre 61 e 63 $^{\circ}\text{C}$.

- Exemplo de volumes pipetados para as reações enzimáticas

- Mix de primers:

- 86,8 μL de água
- 31 μL de *primer forward* a 10 μM
- 31 μL de *primer reverse* a 10 μM

- Mix de enzima:

- 62 μL de tampão 10x
 - 12,4 μL de dNTPs 4x10 mM
 - 3,1 μL de enzima Kapa 5u/ μL
 - 1 μL de TIPP
 - 31 μL de DMSO
 - 124 μL de betaína 5M
 - 213 μL de água
- Adicionando-se a cada poço da placa de PCR 18 μL de mix de enzima, 1 μL de cada DNA e 6 μL de mix de *primers*. (proporção de 18/20, 6/20 e 1/20 para mix enzima, mix *primers* e extrato de DNA)

Protocolo A4 – Exemplo de volumes pipetados para PCR para 24 amostras.

- Mix de primers:

- 62 μL de tampão Tango (Fermentas/Thermo Fisher)
 - 3,7 μL de enzima *MspI*
 - 244,3 μL de água
- Para cada tubo juntou-se 10 μL de mix de enzima com 10 μL de DNA da PCR, incubando depois a 37 $^{\circ}\text{C}$ por aproximadamente 2h.

Protocolo A5 – Exemplo de volumes utilizados para a reação de restrição para 30 amostras.

- Preparação de duas amostras (6E e 9G) para posterior sequenciação

Depois das amostras serem amplificadas foi realizado o seguinte protocolo para a sua purificação.

- Aos 50 µL de solução adicionam-se 150 µL de TE
- À solução anterior de 200 µL adicionam-se 200 µL de clorofórmio, de modo a obter-se uma solução de 1:1
- Agita-se e centrifuga-se por 10 min a 16000 G à temperatura ambiente
- Com uma pipeta retira-se o sobrenadante, com o cuidado de não recolher clorofórmio, transferindo para um novo tubo
- Faz-se um mix com 6,67 µL de acetato de amónio e 60 µL de LPA, dos quais se adiciona 20 µL a cada um dos tubos (amostra 6E e 9G)
- Para precipitar juntam-se 400 µL de etanol, retirado do gelo e deixa-se em gelo por 10 min
- Centrifuga-se por 10 min a 12000 G a 4 °C
- É realizada uma aspiração para recolher o DNA
- Deixam-se os tubos abertos durante 10 min a 37 °C para permitir a evaporação do restante líquido
- Adicionam-se 17 µL de água
- Da solução total retiram-se 16 µL para enviar para o serviço de sequenciação

Protocolo A6 – Protocolo de preparação de amostras para envio para sequenciação.

- Estatísticas gerais dos grupos A, B e C

Tabela A7 – Distribuição dos subgrupos da amostra (A, B e C) em termos de situação familiar (casado, união de facto, solteiro, divorciado e viúvo).

| Estado civil | Casados | União de facto | Solteiros | Divorciados | Viúvos |
|---------------------|----------------|-----------------------|------------------|--------------------|---------------|
| A | 14 | 2 | 12 | 8 | - |
| B | 8 | 1 | 4 | 2 | 2 |
| C | 19 | 3 | 7 | 3 | 2 |

Tabela A8 – Distribuição dos subgrupos da amostra (A, B e C) em termos de terem ou não filhos.

| Filhos | Sim | Não |
|---------------|------------|------------|
| A | 29 | 7 |
| B | 13 | 4 |
| C | 25 | 9 |

Tabela A9 – Distribuição dos subgrupos da amostra (A, B e C) em termos da sua situação laboral (trabalho diurno, noturno ou por turnos, desemprego, baixa ou reforma).

| Situação laboral | Emprego diurno | Emprego noturno | Emprego por turnos | Desempregado | De baixa | Reformado |
|------------------|----------------|-----------------|--------------------|--------------|----------|-----------|
| A | 13 | 2 | 1 | 12 | 1 | 7 |
| B | 6 | - | 2 | 2 | 1 | 6 |
| C | 11 | - | 9 | 5 | - | 9 |

Tabela A10 – Distribuição dos subgrupos da amostra (A, B e C) em termos da sua escolaridade (sem escolaridade – 6º ano, 7º - 12º ano ou ensino superior).

| Escolaridade | Sem escolaridade – 6º ano | 7º - 12º ano | Ensino superior |
|--------------|---------------------------|--------------|-----------------|
| A | 17 | 12 | 7 |
| B | 8 | 7 | 2 |
| C | 13 | 11 | 10 |

Tabela A11 – Distribuição dos subgrupos da amostras (A, B e C) em termos de tomarem ou não medicação para problemas do foro psiquiátrico.

| Medicação psiquiátrica | Sim | Não |
|------------------------|-----|-----|
| A | 30 | 6 |
| B | 13 | 4 |
| C | 15 | 19 |

Tabela A12 – Distribuição dos subgrupos da amostra (A, B e C) em termos de possuírem patologia psiquiátrica (discriminada entre depressão e patologia psiquiátrica não depressiva) ou não.

| Patologia psiquiátrica | Depressão | Outras | Ausência de patologia |
|------------------------|-----------|--------|-----------------------|
| A | 24 | 11 | 2 |
| B | 11 | 5 | 3 |
| C | 9 | 6 | 19 |

Tabela A13 – Distribuição dos subgrupos da amostra (A, B e C) em termos de possuírem ou não história familiar de suicídio (incluindo tentativa de suicídio).

| História familiar de suicídio | Sim | Não |
|-------------------------------|-----|-----|
| A | 15 | 20 |
| B | 7 | 10 |
| C | 8 | 26 |

Tabela A14 – Distribuição dos subgrupos da amostra (A, B e C) em termos de possuírem ou não adversidades na infância.

| Adversidades na infância | Sim | Não |
|---------------------------------|------------|------------|
| A | 21 | 15 |
| B | 8 | 9 |
| C | 12 | 22 |

Tabela A15 – Distribuição no subgrupo A em termos da violência da tentativa de suicídio (violenta ou não violenta).

| Tentativa de suicídio | Violenta | Não violenta |
|------------------------------|-----------------|---------------------|
| A | 15 | 20 |

Tabela A16 – Distribuição no subgrupo A em termos da letalidade da tentativa de suicídio (alta ou baixa).

| Letalidade da tentativa | Alta | Baixa |
|--------------------------------|-------------|--------------|
| A | 19 | 16 |

- Distribuição por sexos entre as diferentes subpopulações

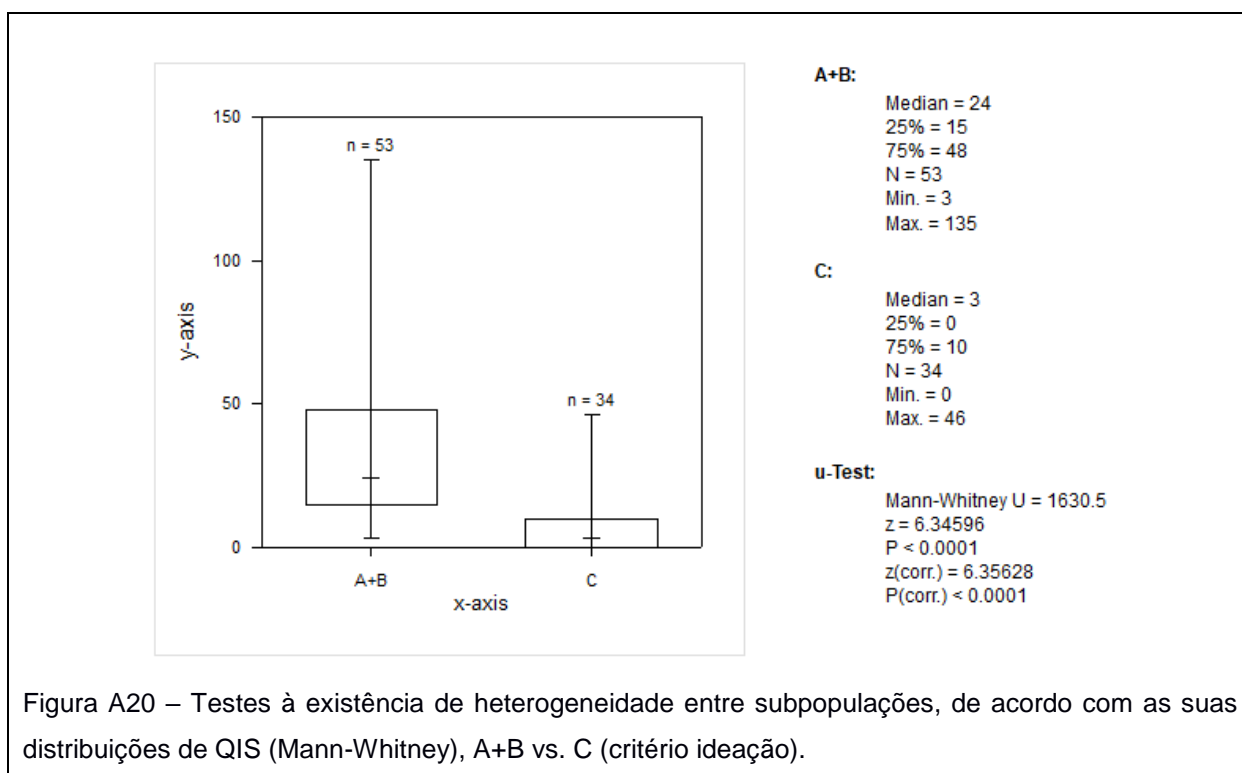
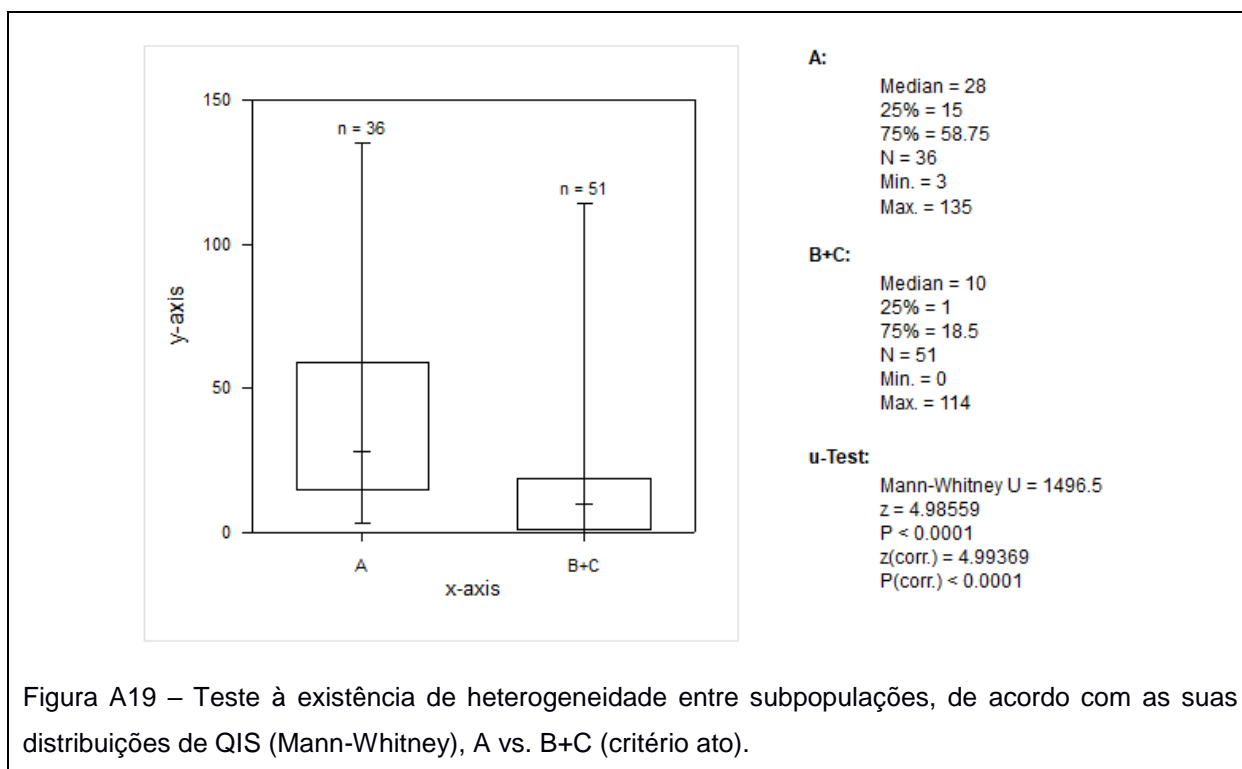
Tabela A17 – Distribuição entre as diferentes subpopulações segundo o sexo (feminino e masculino), A vs. B+C (critério ato).

| Subpopulação | Caso (A) | Controlo (B+C) |
|---------------------|-----------------|-----------------------|
| Feminino | 23 | 13 |
| Masculino | 30 | 21 |

Tabela A18 – Distribuição entre as diferentes subpopulações segundo o sexo (feminino e masculino), A+B vs. C (critério ideação). Observa-se uma predominância de mulheres no grupo Caso.

| Subpopulação | Caso (A+B) | Controlo (C) |
|---------------------|-------------------|---------------------|
| Feminino | 35 | 18 |
| Masculino | 18 | 16 |

- Teste à heterogeneidade entre subpopulações, de acordo com as suas distribuições de QIS



- Distribuição por sexos segundo a existência ou não de doença psiquiátrica

Tabela A21 – Distribuição por sexo segundo a existência ou não de doença psiquiátrica.

| Grupo | Com doença psiquiátrica | Sem doença psiquiátrica |
|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Feminino | 42 (67%) | 11 (46%) |
| Masculino | 21 (33%) | 13 (54%) |
| Total da amostra | 63 (72%) | 24 (28%) |

- Distribuição por sexos segundo a toma ou não de medicação psiquiátrica

Tabela A22 – Distribuição por sexo segundo a toma ou não de medicação para problemas psiquiátricos.

| Grupo | Com Medicação Psiquiátrica | Sem Medicação Psiquiátrica |
|-------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Feminino | 38 (66%) | 15 (52%) |
| Masculino | 20 (34%) | 14 (48%) |
| Total da amostra | 58 (67%) | 29 (33%) |

- Comparação dos valores médios de TQIS entre casos e controlos, para o score total do QIS ou excluindo a pergunta 2, de acordo com a patologia psiquiátrica

Tabela A23 – Comparação dos valores médios de TQIS entre casos e controlos (teste t de Student), quer se inclua ou não a pontuação da pergunta 2 do QIS (acerca da ideação suicida), em indivíduos com depressão. Em todos os casos a média mais elevada corresponde ao grupo caso. Conclui-se que a inclusão ou não da pergunta 2 do QIS não afeta as comparações.

| Média de TQIS (indivíduos com depressão) | Score total do QIS | Subtraindo o score de QIS da pergunta 2 |
|---|---------------------------|--|
| Critério ato (A vs. B+C) | $t_{42}=4,04^{***}$ | $t_{42}=4,05^{***}$ |
| Critério ideação (A+B vs.C) | $t_{42}=4,05^{***}$ | $t_{42}=4,05^{***}$ |

Tabela A24 – Comparação dos valores médios de TQIS entre casos e controlos (teste t de Student), quer se inclua ou não a pontuação da pergunta 2 do QIS (acerca da ideação suicida), em indivíduos com patologias psiquiátricas não depressivas. Em todos os casos a média mais elevada corresponde ao grupo caso. Conclui-se que a inclusão ou não da pergunta 2 do QIS não afeta as comparações.

| Média de TQIS (indivíduos com outras patologias não depressivas) | Score total de QIS | Subtraindo o score de QIS da pergunta 2 |
|---|---------------------------|--|
| Critério ato (A vs. B+C) | $t_{17}=2,30^*$ | $t_{17}=2,17^*$ |
| Critério ideação (A+B vs.C) | $t_{17}=4,19^{***}$ | $t_{17}=3,95^{**}$ |

Tabela A25 – Comparação dos valores médios de TQIS entre casos e controlos (teste t de Student), quer se inclua ou não a pontuação da pergunta 2 do QIS (acerca da ideação suicida), em indivíduos sem patologia psiquiátrica. Em todos os casos com resultado significativo, a média mais elevada corresponde ao grupo caso. Conclui-se que a inclusão ou não da pergunta 2 do QIS não afeta as comparações.

| Média de TQIS (indivíduos sem patologia psiquiátrica) | Score total de QIS | Subtraindo o score de QIS da pergunta 2 |
|--|---------------------------|--|
| Critério ato (A vs. B+C) | $t_{22}=1,49$ ns | $t_{22}=1,42$ ns |
| Critério ideação (A+B vs.C) | $t_{22}=3,41^{**}$ | $t_{22}=3,28^{**}$ |

- Distribuição por sexos segundo a presença ou ausência de adversidades na infância

Tabela A26 – Distribuição por sexo segundo a presença ou ausência de adversidades na infância, e respetivas percentagens dos casos positivos.

| Adversidades na Infância | 1 ou mais adversidades | Sem adversidades | % com adversidades |
|---------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| Feminino | 28 | 25 | 53% |
| Masculino | 13 | 21 | 38% |
| Total da amostra | 41 | 46 | 47% |

- Distribuição por sexos segundo a presença ou ausência de álcool na tentativa de suicídio

Tabela A27 – Distribuição por sexo segundo presença ou não de ingestão de álcool na tentativa de suicídio.

| Grupo | Com Álcool | Sem Álcool |
|-------------------------|-------------------|-------------------|
| Feminino | 4 (44,4%) | 18 (69,2%) |
| Masculino | 5 (55,6%) | 8 (30,8%) |
| Total da amostra | 9 (25,7%) | 26 (74,3%) |

- Distribuição por sexos segundo a presença ou ausência de história familiar de suicídio

Tabela A28 – Distribuição por sexo segundo a presença ou ausência de história familiar de suicídio.

| Grupo | Com história | Sem história |
|--|---------------------|---------------------|
| Feminino* | 21 (70%) | 31 (55%) |
| Masculino | 9 (30%) | 25 (45%) |
| Total da amostra | 30 (35%) | 56 (65%) |
| * menos uma mulher da amostra total – adotada | | |

- Distribuição por sexos segundo o estado civil

Tabela A29 – Tabela com distribuição por sexos segundo o estado civil (casados/união de facto de solteiros/divorciados/viúvos), representando-se entre parêntesis as respetivas percentagens por coluna. A percentagem global de casados/união de facto foi 54%.

| Estado civil | Casados/União de facto | Solteiros/Divorciados/Viúvos |
|-------------------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| Feminino | 30 (64%) | 23 (58%) |
| Masculino | 17 (36%) | 17 (43%) |
| Total da amostra | 47 | 40 |

- Distribuição por subgrupo, dentro de cada sexo com e sem filhos

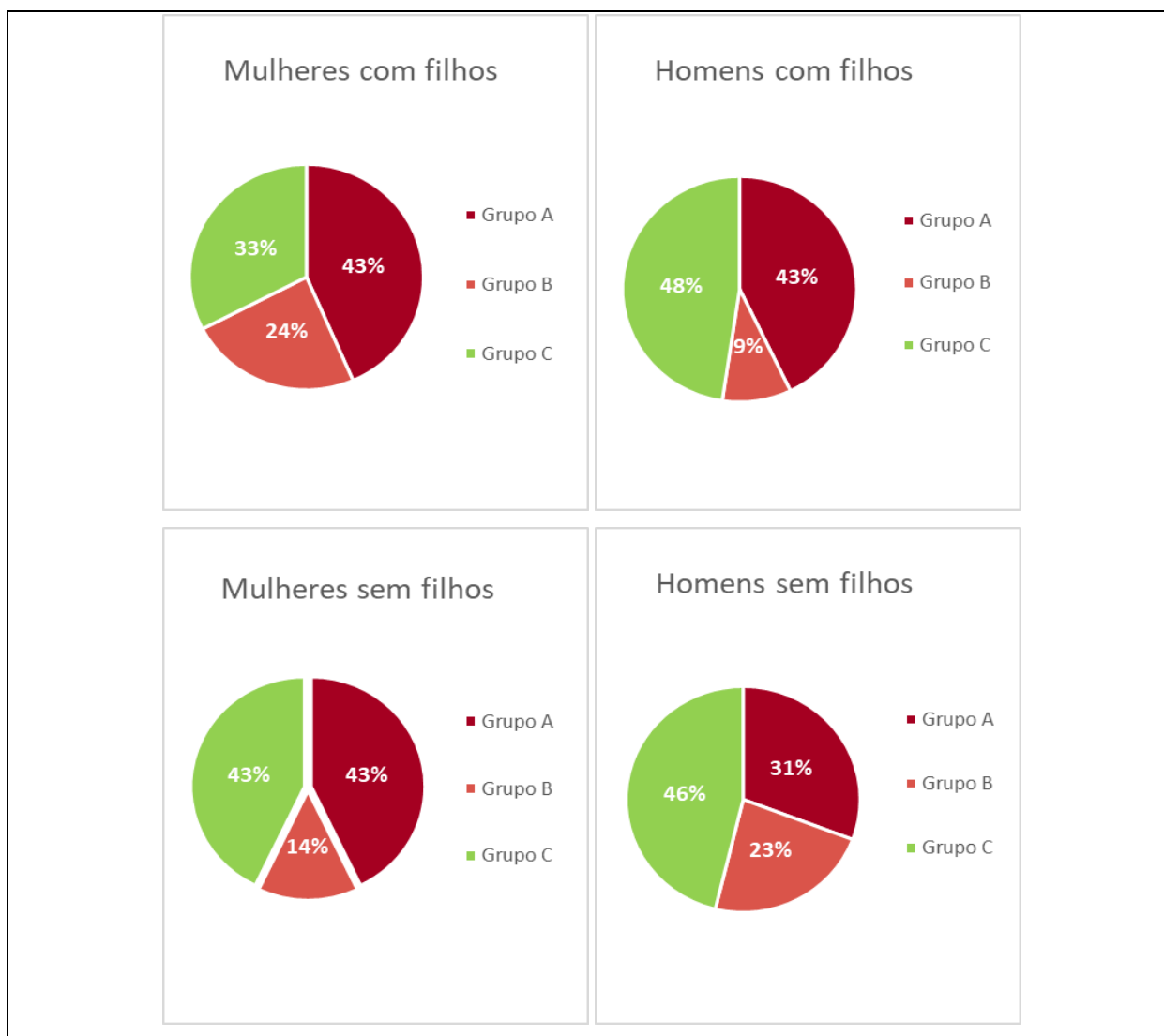


Figura A30 – Distribuição por subgrupos (A, B e C) dentro de cada sexo, com e sem filhos

- Distribuição por sexos segundo o nível de escolaridade

Tabela A31 – Distribuição por sexo segundo o nível de escolaridade (sem escolaridade-6º ano, 7º-12º ano e ensino superior).

| Grupo | Sem escolaridade – 6º ano | 7º - 12º ano | Ensino superior |
|-------------------------|---------------------------|--------------|-----------------|
| Feminino | 23 (61%) | 16 (53%) | 14 (74%) |
| Masculino | 15 (39%) | 14 (47%) | 5 (26%) |
| Total da amostra | 38 (44%) | 30 (34%) | 19 (22%) |

- Distribuição por sexos segundo a situação laboral

Tabela A32 – Distribuição entre sexos segundo a situação laboral (trabalho diurno, trabalho noturno, trabalho por turnos, baixa/desemprego/reforma). Apresentando-se ainda a distribuição aglomerando os três tipos de horário de trabalho.

| Grupo | Trabalho diurno | Trabalho noturno | Trabalho por turno | Com trabalho | Baixa/Desemprego/Reformado |
|------------------|-----------------|------------------|--------------------|--------------|----------------------------|
| Feminino | 20 | 0 | 3 | 23 (52%) | 30 (70%) |
| Masculino | 11 | 2 | 8 | 21 (48%) | 13 (30%) |
| Total | 31 (36%) | 2 (2%) | 11 (13%) | 44 (51%) | 43 (49%) |

- Distribuição dos indivíduos por genótipo e testes de independência

Tabela A33 – Tabela com contagem de indivíduos (caso ou controlo, critério ato – A vs. B+C) para cada um dos genótipos, e ainda grupos de genótipos. A verde representa-se o valor do teste de qui-quadrado para a presença ou ausência do gene L (destaque para ss); a azul representa-se o valor do teste de qui-quadrado comparando heterozigóticos Ls com o conjunto dos homozigóticos; a laranja representa-se o valor do teste de qui-quadrado para a presença ou ausência do alelo s (destaque para LL).

| | Ls+LL | ss | Ls | LL | ss+Ls | ss+LL | Totais |
|-----------------|-----------------|----|----|-----------------|-------|-------|--------|
| Casos (A) | 31 | 5 | 21 | 10 | 26 | 15 | 36 |
| Controlos (B+C) | 38 | 13 | 28 | 10 | 41 | 23 | 51 |
| | χ²=1,10 ns [ss] | | | χ²=0,40 ns [LL] | | | |
| | χ²=0,01 ns [Ls] | | | | | | |

Tabela A34 – Tabelas com contagem de indivíduos (caso ou controlo, critério ideação – A+B vs. C) para cada um dos genótipos, e ainda grupos de genótipos. A verde representa-se o valor do teste de qui-quadrado para a presença ou ausência do gene L (destaque para ss); a azul representa-se o valor do teste de qui-quadrado comparando heterozigóticos Ls com o conjunto dos homozigóticos; a laranja representa-se o valor do teste de qui-quadrado para a presença ou ausência do alelo s (destaque para LL).

| | Ls+LL | ss | Ls | LL | ss+Ls | ss+LL | Totais |
|---------------|-----------------|----|-----------------|----|-------|-------|--------|
| Casos (A+B) | 44 | 9 | 30 | 14 | 39 | 23 | 53 |
| Controlos (C) | 25 | 9 | 19 | 6 | 28 | 15 | 34 |
| | χ²=0,63 ns [ss] | | χ²=0,47 ns [LL] | | | | |
| | χ²=0,02 ns [Ls] | | | | | | |

- Testes de independência entre genótipos para ambos os sexos, para o critério ato

Tabela A35 - Testes de independência (qui-quadrado) realizados em mulheres (♀), comparando casos com controles, segundo o critério ato (A vs. B+C). Em cada coluna, da esquerda para a direita: presença ou ausência de L, presença ou ausência de s, e heterozigotia vs. homozigotia.

| ♀ | LL | Ls | ss | resultado χ^2 | | |
|------------------|----|----|----|--------------------|-----------|------------|
| Casos | 5 | 15 | 3 | L-/ss | s-/LL | Ls/(LL+ss) |
| Controles | 7 | 13 | 10 | 1,90 (ns) | 0,04 (ns) | 1,70 (ns) |

Tabela A36 - Testes de independência (qui-quadrado) realizados em homens (♂), comparando casos com controles, segundo o critério ato (A vs. B+C). Em cada coluna, da esquerda para a direita: presença ou ausência de L, presença ou ausência de s, e heterozigotia vs. homozigotia.

| ♂ | LL | Ls | ss | resultado χ^2 | | |
|------------------|----|----|----|--------------------|-----------|------------|
| Casos | 5 | 6 | 2 | L-/ss | s-/LL | Ls/(LL+ss) |
| Controles | 3 | 15 | 3 | 0,17 (ns) | 1,44 (ns) | 1,23 (ns) |

- Testes de independência entre genótipos para ambos os sexos, para o critério ideação

Tabela A37 - Testes de independência (qui-quadrado) realizados em mulheres (♀), comparando casos com controles, segundo o critério ideação (A+B vs. C). Em cada coluna, da esquerda para a direita: presença ou ausência de L, presença ou ausência de s, e heterozigotia vs. homozigotia.

| ♀ | LL | Ls | ss | resultado χ^2 | | |
|------------------|----|----|----|--------------------|-----------|------------|
| Casos | 8 | 20 | 7 | L-/ss | s-/LL | Ls/(LL+ss) |
| Controles | 4 | 8 | 6 | 0,53 (ns) | 0,09 (ns) | 0,34 (ns) |

Tabela A38 - Testes de independência (qui-quadrado) realizados em homens (♂), comparando casos com controles, segundo o critério ideação (A+B vs. C). Em cada coluna, da esquerda para a direita: presença ou ausência de L, presença ou ausência de s, e heterozigotia vs. homozigotia.

| ♂ | LL | Ls | ss | resultado χ^2 | | |
|------------------|----|----|----|--------------------|-----------|------------|
| Casos | 6 | 10 | 2 | L-/ss | s-/LL | Ls/(LL+ss) |
| Controles | 2 | 11 | 3 | 0,02 (ns) | 1,05 (ns) | 0,19 (ns) |

- Resultados da ANOVA bifatorial para o valor de TQIS entre genótipo e adversidades, pela análise bialélica e funcional, pelo critério de ideação

Tabela A39 – Resumo das tabelas da ANOVA bifatorial (com replicação) para o valor de TQIS do grupo caso (critério ideação, A+B), entre genótipos e adversidades, considerando para o primeiro fator os 3 genótipos, apenas LL e Ls, e entre LL e Ls+ss, agrupando-se L* com L (perspetiva bialélica).

| Grupo A + B (critério ideação) Entre genótipo e adversidades para o valor de TQIS | ANOVA bifatorial, comparando: | os 3 genótipos | LL e Ls | LL com Ls+ss |
|--|----------------------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|
| | Para o genótipo | $F_{2;52}=1,07$ ns | $F_{1;43}=2,52$ ns | $F_{1;52}=1,55$ ns |
| | Para a interação | $F_{2;52}=1,13$ ns | $F_{1;43}=0,07$ ns | $F_{1;52}=0,23$ ns |

Tabela A40 – Resumo das tabelas da ANOVA bifatorial (com replicação) para o valor de TQIS do grupo caso (critério ideação, A+B), entre genótipos e adversidades, considerando para o primeiro fator os 3 genótipos, apenas LL e Ls, e entre LL e Ls+ss, agrupando-se L* com s (perspetiva funcional), em que passamos a ter 4 resultados significativos em relação à tabela anterior (destacado a **cor**).

| Grupo A + B (critério ideação) Entre genótipo e adversidades para o valor de TQIS | ANOVA bifatorial, comparando: | os 3 genótipos | LL e Ls | LL com Ls+ss |
|--|----------------------------------|----------------------|--------------------|----------------------|
| | Para o genótipo | $F_{2;52}=5,88^{**}$ | $F_{1;40}=0,65$ ns | $F_{1;52}=8,62^{**}$ |
| | Para a interação | $F_{2;52}=6,56^{**}$ | $F_{1;40}=0,51$ ns | $F_{1;52}=4,45^*$ |

- Testes de independência em homozigóticos, para a presença de adversidades na infância entre casos e controlos

Tabela A41 – Resultados dos testes de independência (qui-quadrado) em homozigóticos (LL+ss) entre a existência ou não de adversidades na infância e pertencer ao grupo caso (A+B) ou controlo (C) (critério ideação), agrupando L* com L (perspetiva bialélica) ou L* com s (perspetiva funcional); nesta última, a diferença passa a ser quase significativa.

| Homozigotia (LL+ss) | Perspetiva | |
|------------------------------------|----------------------|----------------------|
| | bialélica | funcional |
| A+B vs C (com/sem adversidades) | $\chi^2=1,49$ P=0,22 | $\chi^2=3,68$ P=0,06 |

- Resultados da ANOVA bifatorial para o valor de TQIS entre genótipo e adversidades, pela análise bialélica e funcional, pelo critério ato

Tabela A42 – Resumo das tabelas da ANOVA bifatorial (com replicação) para o valor de TQIS do grupo caso (critério ato, A), entre genótipos e adversidades, considerando para o primeiro fator os 3 genótipos, apenas LL e Ls, e entre LL e Ls+ss, agrupando-se L* com L.

| Grupo A (critério ato) Entre genótipo e adversidades para o valor de TQIS | ANOVA bifatorial, comparando: | os 3 genótipos | LL e Ls | LL com Ls+ss |
|---|-------------------------------------|--------------------------|-------------------|-----------------------------|
| | Para o genótipo | $F_{2;35}=2,51$ ns | $F_{1;30}=6,24^*$ | $F_{1;35}=4,05$ $P=0,05$ |
| | Para o genótipo ^p | $F_{2;32}=2,86$ $P=0,07$ | $F_{1;28}=7,05^*$ | $F_{1;33}=4,34^*$ |

Tabela A43 – Resumo das tabelas da ANOVA bifatorial (com replicação) para o valor de TQIS do grupo caso (critério ato, A), entre genótipos e adversidades, considerando para o primeiro fator os 3 genótipos, apenas LL e Ls, e entre LL e Ls+ss, agrupando-se L* com s em que perdemos significância em relação à tabela anterior (destacado a **cor**).

| Grupo A (critério ato) Entre genótipo e adversidades para o valor de TQIS | ANOVA bifatorial, comparando: | os 3 genótipos | LL e Ls | LL com Ls+ss |
|---|-------------------------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|
| | Para o genótipo | $F_{2;35}=1,12$ ns | $F_{1;27}=2,43$ ns | $F_{1;35}=2,38$ ns |
| | Para o genótipo ^a | $F_{2;32}=1,21$ ns | $F_{1;25}=2,54$ ns | $F_{1;33}=2,47$ ns |

- Comparação dos valores médios de TQIS entre heterozigóticos e homozigóticos no grupo A

Tabela A44 - Comparação dos valores médios de TQIS (teste t) nos casos, entre **heterozigóticos Ls e homozigóticos (LL+ss)**, agrupando L* com L (perspetiva bialélica) ou L* com s (perspetiva funcional); nesta última, a diferença deixa de ser significativa.

| Subgrupo | Perspetiva | |
|----------|-----------------|--------------------|
| | bialélica | funcional |
| A | $t_{34}=2,39$ * | $t_{34}=1,27$ (ns) |

^p Para o genótipo mas só quando a componente interação é incluída no resíduo

- Comparação dos valores médios de TQIS entre heterozigóticos e homozigóticos no grupo caso e entre ter ou não adversidades na infância

Tabela A45 - Comparação dos valores médios de TQIS (teste t) nos casos, **entre os heterozigóticos Ls e os homozigóticos (LL+ss)**, agrupando L* com L (perspetiva bialélica) ou L* com s (perspetiva funcional); nesta última, as diferenças passam a estar longe de ser significativas.

| Subgrupo | Perspetiva | |
|------------------------|------------------------|------------------------|
| | bialélica | funcional |
| A+B (global) | $t_{51}=1,71$ (P=0,09) | $t_{51}=0,81$ (ns) |
| A+B (com adversidades) | $t_{27}=1,99$ (0,06) | $t_{27}=1,28$ (P=0,21) |
| A (com adversidades) | $t_{19}=1,81$ (0,08) | $t_{19}=1,21$ (P=0,24) |

- Testes de independência entre a situação profissional do grupo caso e do controlo, no sexo feminino

Tabela A46 - Resultados dos testes de independência (qui-quadrado) para a associação **entre trabalhar** (de dia, de noite ou por turnos) **ou não** (desemprego, baixa ou reforma), entre casos e controlos (A+B vs C, critério ideação), só no **sexo feminino**, nas heterozigóticas (Ls) e nas que possuem o alelo L (LL+Ls), agrupando L* com L (perspetiva bialélica) ou L* com s (perspetiva funcional); nesta última, os níveis de significância baixaram.

| A+B vs C | Perspetiva | |
|----------|------------------|----------------------|
| | bialélica | funcional |
| Ls | $\chi^2=5,32$ * | $\chi^2=3,31$ P=0,07 |
| LL+Ls | $\chi^2=9,43$ ** | $\chi^2=5,91$ * |

- Testes de independência entre a situação profissional das mulheres do grupo caso e dos restantes indivíduos, com genótipo Ls, critério ideação

Tabela A47 - Resultados dos testes de independência (qui-quadrado) para a associação **entre trabalhar** (de dia, de noite ou por turnos) **ou não trabalhar** (desemprego, baixa ou reforma), **comparando entre mulheres caso** (critério ideação) **e os restantes indivíduos** (dos dois sexos), do genótipo heterozigótico (Ls), agrupando L* com L (perspetiva bialélica) ou L* com s (perspetiva funcional); nesta última, o nível de significância baixou.

| A+B vs C | Perspetiva | |
|----------|-----------------|----------------------|
| | bialélica | funcional |
| Ls | $\chi^2=5,72$ * | $\chi^2=3,13$ P=0,08 |

- Testes de independência entre a situação profissional das mulheres do grupo caso e dos restantes indivíduos, com genótipo LL ou Ls, critério ato

Tabela A48 - Resultados dos testes de independência (qui-quadrado) para a associação **entre trabalhar** (de dia, de noite ou por turnos) **ou não trabalhar** (desemprego, baixa ou reforma), **comparando entre mulheres caso** (critério ideação) **e os restantes indivíduos** (dos dois sexos), dos genótipos contendo o alelo L (LL+Ls), agrupando L* com L (perspetiva bialélica) ou L* com s (perspetiva funcional); nesta última, fica longe de ser significativo.

| A vs B+C | Perspetiva | |
|----------|------------------------|------------------------|
| | bialélica | funcional |
| LL+Ls | $\chi^2=3,74$ (P=0,05) | $\chi^2=0,82$ (P=0,36) |

Anexo 1 – Consentimento Informado

CONSENTIMENTO INFORMADO, LIVRE E ESCLARECIDO PARA PARTICIPAÇÃO EM PROJETOS DE DOCÊNCIA E/OU INVESTIGAÇÃO

de acordo com a Declaração de Helsínquia^q e a Convenção de Oviedo^r

Por favor, leia com atenção a seguinte informação. Se achar que algo está incorreto ou que não está claro, não hesite em solicitar mais informações. Se concorda com a proposta que lhe foi feita, queira assinar este documento.

Título do estudo: Estudo de amostras de saliva de indivíduos da zona do Baixo Alentejo que tentaram o suicídio e a sua relação com um polimorfismo no gene do transportador da serotonina (5-HTTLPR), já previamente relacionado com o comportamento suicida

Projeto de investigação no âmbito do mestrado em Medicina Legal (ICBAS – Universidade do Porto) orientado pelo Prof. Dr. Rui Manuel de Medeiros Melo Silva.

Explicação do estudo: Este projeto de investigação tem como objetivo estabelecer uma relação entre uma variação genética e o comportamento suicida.

São convidadas a participar no estudo as pessoas que tenham tido contacto com o Hospital de Beja devido a uma tentativa de suicídio e ainda pessoas em consulta no departamento de psiquiatria e saúde mental que nunca tenham tido uma tentativa de suicídio (como controlo). Esta participação consistirá no preenchimento de um pequeno questionário relacionado com a ideação suicida e noutro questionário onde serão recolhidos alguns dados demográficos e pessoais. Será ainda pedido aos participantes que após o preenchimento dos questionários cedam uma amostra de saliva, colhida com a ajuda da responsável pelo estudo, no qual se passará apenas com uma zaragatoa nas bochechas pedindo depois para o participante cuspir para um tubo. Este tipo de colheita não é invasiva e não está associado qualquer risco ou desconforto.

As amostras de saliva serão analisadas para o estudo de um polimorfismo genético (uma vez que se sabe que há uma possível relação entre a genética e o comportamento suicida), sendo armazenadas apenas durante o período necessário para a realização dos exames e posteriormente destruídas. Uma vez que, além dos questionários, será apenas necessária uma amostra por parte de cada participante, haverá apenas um encontro entre este e a responsável pela investigação, sendo o mesmo de curta duração (15-30min).

O presente estudo não se propõe a trazer benefícios diretos aos voluntários mas sim contribuir para uma melhor compreensão no que diz respeito ao suicídio, podendo ajudar no futuro no desenvolvimento de estratégias para deteção de pessoas em risco e de possíveis tratamentos.

O projeto será financiado, em parte, pelo ICBAS – Universidade do Porto e obteve um parecer favorável por parte da CNPD (autorização 5091/2016) e da Comissão de Ética da ULSBA (Unidade Local de Saúde do Baixo Alentejo) assim como da Direção Clínica Hospitalar.

Sendo a participação neste estudo voluntária, pode ser retirado o consentimento e interrompida a participação no estudo a qualquer momento. A recusa em participar ou a interrupção da participação não trarão prejuízo a qualquer nível.

Está garantido o anonimato do participante e a privacidade das informações que forem fornecidas pelo mesmo, assim como a confidencialidade e uso exclusivo das amostras e dados

^q [http://portal.arsnorte.min-](http://portal.arsnorte.min-saude.pt/portal/page/portal/ARSNorte/Comiss%C3%A3o%20de%20%C3%89tica/Ficheiros/Declaracao_Helsinquia_2008.pdf)

[saude.pt/portal/page/portal/ARSNorte/Comiss%C3%A3o%20de%20%C3%89tica/Ficheiros/Declaracao_Helsinquia_2008.pdf](http://portal.arsnorte.min-saude.pt/portal/page/portal/ARSNorte/Comiss%C3%A3o%20de%20%C3%89tica/Ficheiros/Declaracao_Helsinquia_2008.pdf)

^r <http://dre.pt/pdf1sdip/2001/01/002A00/00140036.pdf>

recolhidos para o presente estudo. Após a utilização das amostras para os objetivos pretendidos as mesmas serão destruídas.

Eu, Maria Margarida Feliciano Silvestre Ferreira, candidata ao grau de mestre em Medicina Legal na Universidade do Porto, agradeço desde já a atenção prestada e a sua contribuição para a realização do estudo aqui apresentado.

Assinatura: _____

~~~~~  
*Declaro ter lido e compreendido este documento, bem como as informações verbais que me foram fornecidas pela/s pessoas/s que acima assina/m e que considero suficientes. Foi-me garantida a possibilidade de, em qualquer altura, recusar participar neste estudo sem qualquer tipo de consequências. Desta forma, aceito participar neste estudo e permito a utilização dos dados que de forma voluntária forneço, confiando em que apenas serão utilizados para esta investigação e nas garantias de confidencialidade e anonimato que me são dadas pelo/a investigador/a.*

Nome: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Data: \_\_/\_\_/\_\_\_\_

**ESTE DOCUMENTO, COMPOSTO DE 2 PÁGINA/S, É FEITO EM DUPLICADO:  
UMA VIA PARA O/A INVESTIGADOR/A, OUTRA PARA A PESSOA QUE CONSENTE**

## Anexo 2 – Questionário para o grupo caso (indivíduos com tentativa de suicídio)

### QUESTIONÁRIO

Este formulário destina-se a uma recolha de dados essenciais à execução de uma tese de mestrado em Medicina Legal (ICBAS – Universidade do Porto), que tem como objetivo estabelecer uma relação entre uma variação genética e o comportamento suicida e que, embora não se proponha a trazer benefícios diretos aos voluntários pode vir a contribuir para uma melhor compreensão no que diz respeito ao suicídio, podendo vir a ser útil no futuro. Sendo eu, Maria Margarida Feliciano Silvestre Ferreira, a responsável pela mesma, venho solicitar o preenchimento do questionário em questão.

Seguem 15 questões, às quais deverá responder com uma cruz em cada uma de acordo com a resposta que mais se adequar, devendo ainda escrever as respostas no caso das perguntas nº 2, 5, 12 e 13 e ainda na 4, 8 e 10 caso se adequue. Certifique-se que preenche todas as questões e que não dá mais de uma resposta para cada uma.

Relembro que não há respostas certas nem erradas e que o conteúdo das mesmas é completamente confidencial.

1. **Sexo:** Masculino ☐ Feminino ☐

2. **Idade:** \_\_\_\_\_

3. **Estado civil:** Solteiro ☐ Casado ☐ União de facto ☐ Divorciado ☐ Viúvo ☐

4. **Tem filhos?** Sim ☐ Quantos? \_\_\_\_\_ Não ☐

5. **Escolaridade:** \_\_\_\_\_

6. **Emprego:** Desempregado(a) ☐ Trabalho diurno ☐ Trabalho noturno ☐ Por turnos ☐

7. **Toma medicação para problemas psiquiátricos?** Sim ☐ Não ☐

8. **Possui história pessoal de doença psiquiátrica?** Sim ☐ Qual? \_\_\_\_\_ Não ☐

9. **Possui história familiar de tentativa de suicídio?** Sim ☐ Não ☐

10. **Possui história de adversidade na infância?\*** Sim ☐ Quantas? \_\_\_\_\_ Não ☐

\* Adversidades a infância incluem: abuso emocional, físico e sexual; negligência física e emocional; familiares consumidores de álcool e/ou drogas; divórcio dos pais; violência doméstica entre os pais

11. **Possui dependência a álcool e/ou drogas?** Sim ☐ Não ☐

**Relativamente à tentativa de suicídio que fez...**

12. **Qual foi o método utilizado?**

\_\_\_\_\_

13. **Quantas tentativas de suicídio já fez?** \_\_\_\_\_

**14. Quanto à letalidade da tentativa de suicídio, ela foi\*\*:** Baixa ☐ Alta ☐

\*\* A letalidade da tentativa relaciona-se com as hipóteses de sobreviver ou não, por exemplo, uma tentativa feita na presença de alguém que sabemos que nos irá levar diretamente ao hospital tem uma letalidade baixa

**15. Houve recurso ao consumo de álcool?** Sim ☐ Não ☐

Cor dos olhos:\_\_\_\_\_

Cor do cabelo:\_\_\_\_\_

Cor da pele:\_\_\_\_\_

Código do participante:\_\_\_\_\_

### Anexo 3 – Questionário para o grupo controlo (indivíduos sem tentativa de suicídio)

#### QUESTIONÁRIO

Este formulário destina-se a uma recolha de dados essenciais à execução de uma tese de mestrado em Medicina Legal (ICBAS – Universidade do Porto), que tem como objetivo estabelecer uma relação entre uma variação genética e o comportamento suicida e que, embora não se proponha a trazer benefícios diretos aos voluntários pode vir a contribuir para uma melhor compreensão no que diz respeito ao suicídio, podendo vir a ser útil no futuro. Sendo eu, Maria Margarida Feliciano Silvestre Ferreira, a responsável pela mesma, venho solicitar o preenchimento do questionário em questão.

Seguem 11 questões, às quais deverá responder com uma cruz em cada uma de acordo com a resposta que mais se adequar, devendo ainda escrever as respostas no caso das perguntas nº 2 e 5 e ainda na 4, 7 e 9 caso se adequar. Certifique-se que preenche todas as questões e que não dá mais de uma resposta para cada uma.

Relembro que não há respostas certas nem erradas e que o conteúdo das mesmas é completamente confidencial.

1. **Sexo:** Masculino ☐ Feminino ☐

2. **Idade:** \_\_\_\_\_

3. **Estado civil:** Solteiro ☐ Casado ☐ União de facto ☐ Divorciado ☐ Viúvo ☐

4. **Tem filhos?** Sim ☐ Quantos? \_\_\_\_\_ Não ☐

5. **Escolaridade:** \_\_\_\_\_

6. **Emprego:** Desempregado(a) ☐ Trabalho diurno ☐ Trabalho noturno ☐ Por turnos ☐

7. **Toma medicação para problemas psiquiátricos?** Sim ☐ Não ☐

8. **Possui história pessoal de doença psiquiátrica?** Sim ☐ Qual? \_\_\_\_\_ Não ☐

9. **Possui história familiar de tentativa de suicídio?** Sim ☐ Não ☐

10. **Possui história de adversidade na infância?\*** Sim ☐ Quantas? \_\_\_\_\_ Não ☐

\* Adversidades a infância incluem: abuso emocional, físico e sexual; negligência física e emocional; familiares consumidores de álcool e/ou drogas; divórcio dos pais; violência doméstica entre os pais

11. **Alguma vez pensou em suicidar-se?** Sim ☐ Não ☐

Código do participante: \_\_\_\_\_

#### Anexo 4 – Questionário de Ideação Suicida (QIS)

| <p>Na lista, em baixo, há um certo número de frases sobre pensamentos que por vezes ocorrem às pessoas. <b>Por favor indique quais destes pensamentos teve no mês passado.</b></p> <p>Faça uma cruz na resposta que melhor descreve os seus pensamentos. Certifique-se que preenche uma cruz para cada frase. Lembre-se que <b>não há respostas certas nem erradas.</b></p> |                     |                       |                             |                    |                          |                                    |                            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|-----------------------|-----------------------------|--------------------|--------------------------|------------------------------------|----------------------------|
| Pensei nisso                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Quase todos os dias | Duas vezes por semana | Cerca de uma vez por semana | Duas vezes por mês | Cerca de uma vez por mês | Pensei nisto mas não no último mês | Nunca tive este pensamento |
| 1- Pensei que seria melhor não estar vivo                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                     |                       |                             |                    |                          |                                    |                            |
| 2- Pensei suicidar-me                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                     |                       |                             |                    |                          |                                    |                            |
| 3- Pensei na maneira como me suicidaria                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                     |                       |                             |                    |                          |                                    |                            |
| 4- Pensei quando me suicidaria                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                     |                       |                             |                    |                          |                                    |                            |
| 5- Pensei em pessoas a morrerem                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                     |                       |                             |                    |                          |                                    |                            |
| 6- Pensei na morte                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                     |                       |                             |                    |                          |                                    |                            |
| 7- Pensei no que escrever num bilhete sobre suicídio                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                     |                       |                             |                    |                          |                                    |                            |
| 8- Pensei em escrever um testamento                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                     |                       |                             |                    |                          |                                    |                            |
| 9- Pensei dizer às pessoas que planeava suicidar-me                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                     |                       |                             |                    |                          |                                    |                            |
| 10- Pensei que as pessoas estariam mais felizes se eu não estivesse presente                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                     |                       |                             |                    |                          |                                    |                            |
| 11- Pensei em como as pessoas se sentiriam se me suicidasse                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                     |                       |                             |                    |                          |                                    |                            |
| 12- Desejei estar morto(a)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                     |                       |                             |                    |                          |                                    |                            |
| 13- Pensei em como seria feliz acabar com tudo                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                     |                       |                             |                    |                          |                                    |                            |
| 14- Pensei que suicidar-me resolveria os meus problemas                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                     |                       |                             |                    |                          |                                    |                            |
| 15- Pensei que os outros ficariam melhor se eu estivesse morto(a)                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                     |                       |                             |                    |                          |                                    |                            |
| 16- Desejei ter coragem para me matar                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                     |                       |                             |                    |                          |                                    |                            |

|                                                                                                       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 17- Desejei nunca ter nascido                                                                         |
| 18- Pensei que se tivesse oportunidade me suicidaria                                                  |
| 19- Pensei nas maneiras como as pessoas se suicidam                                                   |
| 20- Pensei em matar-me mas não o faria                                                                |
| 21- Pensei em ter um acidente grave                                                                   |
| 22- Pensei que a vida não valia a pena                                                                |
| 23- Pensei que a minha vida era muito miserável para continuar                                        |
| 24- Pensei que a única maneira de repararem em mim era matar-me                                       |
| 25- Pensei que se me matasse as pessoas se aperceberiam que teria valido a pena preocuparem-se comigo |
| 26- Pensei que ninguém se importava se eu estava vivo(a) ou morto(a)                                  |
| 27- Pensei em magoar-me mas não suicidar-me                                                           |
| 28- Perguntei-me se teria coragem para me matar                                                       |
| 29- Pensei que se as coisas não melhorassem eu matar-me-ia                                            |
| 30- Desejei ter o direito de me matar                                                                 |
| Código do participante:_____                                                                          |



AUTORIZAÇÃO N.º 5091 /2016

I. Pedido

Maria Margarida Feliciano Silvestre Ferreira, no âmbito de Mestrado em Medicina Legal pela Universidade do Porto notificou à Comissão Nacional de Protecção de Dados (CNPd) um tratamento de dados pessoais com a finalidade de elaborar o "Estudo de amostras de saliva e urina de indivíduos da zona do Baixo Alentejo que tentaram o suicídio e a sua relação com as concentrações de melatonina e com um polimorfismo no gene do transportador da serotonina (5-HTTLPR), já previamente relacionado com o comportamento suicida".

Trata-se, então, de investigação destinada a estabelecer uma relação entre os níveis da hormona melatonina, uma variação genética e o comportamento suicida.

Serão participantes no estudo pacientes do departamento de Psiquiatria do Hospital de Beja que tenham tentado o suicídio e alguns trabalhadores do hospital para formação de grupo de controlo.

A participação no estudo consistirá no preenchimento de um questionário demográfico e sobre a ideação suicida e na recolha de uma amostra de saliva e de urina. As amostras serão armazenadas apenas durante o período necessário para a realização dos exames e posteriormente destruídas, pelo que não será constituído um biobanco.

Os dados serão recolhidos num "caderno de recolha de dados" no qual não há identificação nominal do titular, sendo apostado um código de doente. As amostras serão igualmente objeto de codificação. A chave desta codificação só pode ser conhecida da investigadora.

f

A responsável pretende recolher os seguintes dados: código do participante, idade, género; estado civil; escolaridade; situação profissional; concentração de aMT6s noturno (metabolito da melatonina na urina); Genótipo (LL/ss/Ls); alelo (L/s); medicação para problemas psiquiátricos (sim/não); história pessoal de doença psiquiátrica (sim-qual/não); história familiar de tentativa de suicídio (sim/não); história de adversidades na infância (sim-quantas/não – incluem abuso emocional, físico e sexual, negligência física e emocional, familiares consumidores de álcool e/ou drogas, divórcio dos pais, violência doméstica entre os pais);

Apenas para o grupo caso: tipo de tentativa de suicídio (violenta/não violenta); número de tentativas; escala de ideação suicida; letalidade da tentativa (baixa/alta); comorbilidades – dependência de álcool e/ou drogas (sim/não).

Amostras de saliva e urina.

A investigadora responsável declarou que o prazo máximo de conservação necessário para as amostras biológicas será de 7 meses (período necessário para análise) e de 10 meses para os restantes dados.

Os destinatários são ainda informados sobre a natureza facultativa da sua participação e garantia de confidencialidade no tratamento, caso decidam participar, recolhendo a investigadora o seu consentimento informado para o efeito.

## II. Análise

A CNPD já se pronunciou na sua Deliberação n.º 1704/2015 sobre o enquadramento legal, os fundamentos de legitimidade, os princípios orientadores para o correto cumprimento da Lei n.º 67/98, de 26 de outubro, alterada pela Lei n.º 103/2015, de 24 de agosto (Lei da Protecção de Dados Pessoais – LPDP), bem como as condições gerais aplicáveis ao tratamento de dados pessoais para a finalidade de estudos de investigação na área da saúde.



*μ*

Porque em grande parte referentes à vida privada e também à saúde, os dados recolhidos pela requerente têm a natureza de sensíveis, nos termos do disposto no n.º 1 do artigo 7.º da LPDP.

Em regra, o tratamento de dados sensíveis é proibido, de acordo com o disposto no n.º 1 do artigo 7.º da LPDP. Todavia, nos termos do n.º 2 do mesmo artigo, o tratamento de dados da vida privada e de saúde é permitido, quando haja uma disposição legal que consagre esse tratamento de dados, quando por motivos de interesse público importante o tratamento for indispensável ao exercício das atribuições legais ou estatutárias do seu responsável ou quando o titular dos dados tiver prestado o seu consentimento.

Não estando preenchidas as duas primeiras condições de legitimidade, o fundamento de legitimidade só pode basear-se no consentimento dos titulares dos dados ou dos representantes legais, quando os titulares dos dados sejam incapazes.

Assim, é necessário o «consentimento expresso do titular», entendendo-se por consentimento qualquer manifestação de vontade, livre, específica e informada, nos termos da qual o titular aceita que os seus dados sejam objeto de tratamento (cf. artigo 3.º, alínea *h*), da LPDP), o qual deve ser obtido através de uma “declaração de consentimento informado” onde seja utilizada uma linguagem clara e acessível.

Nos termos do artigo 10.º da LPDP, a declaração de consentimento tem de conter a identificação do responsável pelo tratamento e a finalidade do tratamento, devendo ainda conter informação sobre a existência e as condições do direito de acesso e de retificação por parte do respetivo titular.

Os titulares dos dados, de acordo com a declaração de consentimento informado junta aos autos, apõem as suas assinaturas na mesma, deste modo satisfazendo as exigências legais.

No que diz respeito ao grupo caso, a responsável deverá contar com a colaboração dos colegas, médicos assistentes dos potenciais participantes, para apresentação do estudo aos seus pacientes. A responsável apenas poderá contactar os doentes que previamente consentam nesse contacto.

O acesso aos dados identificados dos participantes deve ser feito no estrito cumprimento do disposto na Lei n.º 21/2014, de 16 de abril, com as alterações introduzidas pela Lei n.º 73/2015, de 27 de junho (Lei da Investigação Clínica).

A informação tratada é recolhida de forma lícita (artigo 5.º, n.º1 alínea *a*) da LPDP), para finalidades determinadas, explícitas e legítimas (cf. alínea *b*) do mesmo artigo) e não é excessiva.

### III. Conclusão

Assim, nos termos das disposições conjugadas do n.º 2 do artigo 7.º, n.º 1 do artigo 27.º, alínea *a*) do n.º 1 do artigo 28.º e artigo 30.º da Lei de Protecção de Dados, com as condições e limites fixados na referida Deliberação n.º 227/2007, que se dão aqui por reproduzidos e que fundamentam esta decisão, autoriza-se o tratamento de dados *supra* referido, consignando-se o seguinte:

**Responsável pelo tratamento:** Maria Margarida Feliciano Silvestre Ferreira;

**Finalidade:** "Estudo de amostras de saliva e urina de indivíduos da zona do Baixo Alentejo que tentaram o suicídio e a sua relação com as concentrações de melatonina e com um polimorfismo no gene do transportador da serotonina (5-HTTLPR), já previamente relacionado com o comportamento suicida";

**Categoria de Dados pessoais tratados:** código do participante, idade, género; estado civil; escolaridade; situação profissional; concentração de aMT6s noturno (metabolito da melatonina na urina); Genótipo (LL/ss/Ls); alelo (L/s); medicação para problemas psiquiátricos (sim/não); história pessoal de doença psiquiátrica (sim-qual/não); história

familiar de tentativa de suicídio (sim/não); história de adversidades na infância (sim-quantas/não – incluem abuso emocional, físico e sexual, negligência física e emocional, familiares consumidores de álcool e/ou drogas, divórcio dos pais, violência doméstica entre os pais);

Apenas para o grupo caso: tipo de tentativa de suicídio (violenta/não violenta); número de tentativas; escala de ideação suicida; letalidade da tentativa (baixa/alta); comorbilidades – dependência de álcool e/ou drogas (sim/não).

Amostras de saliva e urina;

Entidades a quem podem ser comunicados: Não há.

Formas de exercício do direito de acesso e retificação: Junto da responsável.

Interconexões de tratamentos: Não há.

Transferências de dados para países terceiros: Não há.

Prazo de conservação: nos termos da deliberação n.º 1704/2015, a chave de codificação dos dados deverá ser destruída no prazo de 5 anos após o fim do estudo; as amostras devem ser destruídas imediatamente após a sua análise, num prazo máximo de 7 meses após a sua recolha, conforme requerido pela responsável.

Dos termos e condições fixados na Deliberação n.º 1704/2015 e na presente Autorização decorrem obrigações que o responsável deve cumprir. Deve, igualmente, dar conhecimento dessas condições a todos os intervenientes no circuito de informação.

Lisboa, 31 de maio de 2016



Filipa Calvão (Presidente)